

哌甲酯干预儿童多动症患者尿液的代谢组学研究

苟小军 周彦平 朱一冰

摘要 目的 基于代谢组学方法研究哌甲酯干预儿童多动症患者尿液内源性代谢物的变化,并探索哌甲酯的作用机制。**方法** 采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)检测 37 例儿童多动症患者哌甲酯干预前(病例 0 周组)、干预 6 周(病例 6 周组)、干预 12 周(病例 12 周组)和同期 40 例健康者(对照组)尿液内源性代谢物,经正交偏最小二乘法(OPLS)分析,寻找显著差异的变量,鉴定潜在生物标志物。**结果** 对照组、病例 0 周组、病例 12 周组的尿液代谢谱发生了明显变化,病例 0 周组与对照组的代谢谱能够区分,同时病例 12 周组样本远离病例 0 周组,靠近对照组;利用商业化的代谢物谱库(如 Wiley 和 NIST 质谱库)及本实验室建立的标准品代谢物谱库鉴定了 24 种相关代谢标志物,哌甲酯干预后,这些代谢物的水平逆转到正常水平。**结论** 本研究表明哌甲酯治疗儿童多动症具有良好的疗效,其作用机制可能与丙酮酸代谢、色氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等代谢异常有关,代谢组学从机体整体代谢角度揭示了哌甲酯治疗儿童多动症的作用机制。

关键词 代谢组学 儿童多动症 哌甲酯 作用机制

中图分类号 R72

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.016

Study on Metabolomic Urine in Children with ADHD Treated with Methylphenidate. Gou Xiaojun, Zhou Yanping, Zhu Yibing. Central Laboratory, Baoshan District Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Shanghai, Shanghai 201999, China

Abstract Objective To study the effect of methylphenidate on urinary endogenous metabolites in children with ADHD, and to explore the mechanism of methylphenidate. **Methods** The metabolites of urine in 37 children with ADHD treated with methylphenidate before intervention (case 0 week group), intervention for 6 weeks (6 weeks group), intervention 12 weeks (12 weeks group, and 40 healthy subjects (control group) were measured by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and analyzed by orthogonal partial least squares (OPLS) to find the significant differences biomarkers. **Results** The urine metabolic profile of the control group, the 0 week group and the 12 week group showed obvious changes. The metabolic profile of the 0 week group and the control group was differentiated, and the 12 week group was away from the 0 week group, and closed to the control group. 24 significant differences metabolites were identified using commercially available metabolite libraries (such as the Wiley and NIST mass pools) and the standard metabolite library established in our laboratory. The levels of these metabolites were reversed to normal level due to methylphenidate intervention. **Conclusion** This study shows that methylphenidate has a good curative effect on children with ADHD. Its mechanism is related to the metabolic abnormalities of pyruvate metabolism, tryptophan metabolism, phenylalanine metabolism, glycine, serine and threonine metabolism. The possible mechanism of methylphenidate in the treatment of children with ADHD was revealed from the overall metabolic point of the body. Metabolomics reveals possible therapeutic mechanism of methylphenidate for children with ADHD from overall metabolism of the body.

Key words Metabolomics; ADHD; Methylphenidate; Mechanism of action

儿童多动症又称为注意缺陷多动障碍(attention deficit hyperactivity disorder, ADHD),是儿童期较常见的行为障碍综合征,临床主要表现为活动过多,注意力不集中,情绪不稳,冲动任性,并有不同程度的学习

困难^[1]。流行病学调查数据显示,国外儿童多动症的发生率为 3%~10%,国内儿童多动症发生率为 2.59%~7.25%^[2,3]。其中男性儿童为 3.73%~10.98%,女性儿童为 1.16%~3.02%^[4]。部分患儿成年后仍有症状,自控力差,易受不良影响和引诱,极易打架斗殴、说谎偷窃,甚至走上犯罪的道路,严重影响患儿的学习和身心健康,甚至影响社会的安全^[5]。

哌甲酯是治疗儿童多动症最常用的药物,是一种中枢兴奋剂,其主要是通过增加大脑神经细胞间隙对去甲肾上腺素(NE)的释放,并阻止其重吸收,进而使

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473475);上海市宝山区中西医结合医院院级基金资助项目(201401、201406)

作者单位:201999 上海市宝山区中西医结合医院中心实验室(苟小军),儿科(周彦平、朱一冰)

通讯作者:周彦平,电子信箱:zyxnx@163.com;朱一冰,主任医师,电子信箱:zhu_yi_bing@hotmail.com

儿童多动症患儿的注意力集中,以达到改善行为的目的,但其具体的作用途径和作用机制目前尚不明确,需要进一步探索^[6]。代谢组学是通过考察生物体系受刺激或扰动后其代谢产物发生的变化,来研究生物体系的代谢途径的一种技术,代谢组学在国内外已成功应用于疾病标志物的发现、疾病诊断、药物药效和毒性评价、新药研究与开发以及药物作用机制研究等多个方面^[7,8]。机体在异常的状态下代谢网络偏移正常状态,药物干预达到纠偏的目的,使异常的代谢网络回归正常,因此,本研究借助代谢组学技术可以从微观角度检测药物干预前后机体内源性代谢物的变化特征,从小分子代谢水平角度评价药物的疗效,发现药物作用的靶点,探讨其作用机制^[9]。因此,本研究采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)检测儿童多动症患者哌甲酯干预前后和健康者尿液内源性代谢物的变化,并探索哌甲酯干预儿童多动症的作用机制。

材料与方法

1. 研究对象:所有患儿均来自于 2015 年 12 月~2016 年 12 月宝山区中西医结合医院儿科门诊患者,共 37 例。病例选择符合 CCMD-3 中“儿童 ADHD 的诊断标准和排除标准”^[10],患儿年龄为 6~14 岁且智力水平在正常范围、体格检查无明显异常、1 周内未服用过任何精神活性药物的儿童多动症患者,并排除合并有心血管、肝脏、肾脏、造血系统和神经系统等严重躯体器质性疾病;有品行障碍、广泛性发育障碍、精神发育迟滞、情绪障碍、精神分裂症及抽动秽语综合征等;对多种药物过敏或已知对本研究药物过敏者;不能签署知情同意书者。同时以上海市宝山区实验小学经相关检查,正常的 40 例健康儿童作为对照组,两组在性别、年龄、体重等基本资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究方案经笔者医院医学伦理委员会批准,所有研究对象均自愿参与并由监护人签署了知情同意书。

2. 治疗方法:ADHD 患儿用盐酸哌甲酯缓释片(Janssen - Cilag Limited. H20120110)治疗,18~36mg/d,晨顿服。根据年龄、体重及临床实际情况调整药物剂量,疗程为 12 周。

3. 分组与样本信息收集:病例组:诊断的儿童 ADHD 患儿 37 例,根据尿液样本的收集时间点,又分为病例 0 周组、病例 6 周组、病例 12 周组,同时设正常儿童对照组。收集研究对象的一般资料(年龄、性别、病程),服药情况,治疗前后的一般健康状况、多

动指数及不良反应等变化,作详细记录。对照组:40 例,为来源于上海市宝山区实验小学的健康儿童。

4. 生物样本采集:收集所有入组儿童的晨尿 10ml,样本于 -70℃ 冰箱冻存。要求病例组患儿收集标本 1 天前停用药物,晚上 8:00 时以后禁食。

5. 尿液收集时间点:用药前 0 周,用药中间时间 6 周,用药后 12 周的周末为样本收集的时间点。(正常组样本没有动态时间点)。

6. 试剂与仪器:N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide(BSTFA+1%TMCS,购自梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,批号:B0830);盐酸甲氧胺(methoxyamine hydrochloride,购自梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,批号:M0343);2-氯苯丙氨酸、十七碳酸、吡啶、甲醇以上皆为分析纯,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。气相色谱/质谱联用仪(GC/MS,7890A/5975C,安捷伦科技有限公司);气相毛细管色谱柱(HP-5MS,5%苯/95%甲基聚硅氧烷 30m×250μm 内径,0.25μm film thickness,Agilent J & W Scientific, Folsom, CA, USA);冷冻离心机(H1650-W,Eppendorf);混匀仪(QL-866,江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);鼓风干燥箱(DHG-9240,YiHeng);真空离心浓缩仪(Eppendorf 53050)。

7. 尿液样品前处理:实验前 2h,将所有样本在 4℃ 下融化,取 1.0ml 尿液样品于离心管中,12000r/min 离心 10min;取上清液 200μl 于 1.5ml 离心管中,加入 30 个单位的尿素酶,振荡 30s,在 37℃,反应 15min 去除尿素;加入 800μl 的甲醇和 10μl 的肉豆蔻酸,振荡 1min;13000r/min 离心 10min,取上清液 200μl 于 GC 瓶中,真空离心浓缩至干;加入 50μl 的甲氧胺,封盖,振荡 1min,在 30℃ 的摇床(200r/min)下反应 90min 进行甲氧氨对羰基的封闭反应,启盖;加入 50μl 的 BSTFA+1%TMCS,封盖,振荡 30s;在 70℃ 的烘箱中反应 60min,振荡 30s,启盖,加入 40μl 的庚烷,封盖,振荡 30s 即可。

8. 气相色谱/质谱(GC/MS)分析条件:色谱及质谱参数如下:系统载气及流速:进样量 1μl,分流比 20:1,氦气 1ml/min,进样口温度 280℃;离子源温度 230℃;接口温度 150℃;升温程序以 60℃ 为初始温度,持续 2min,以 10℃/min 的速率上升到 300℃ 并在 300℃ 停留 4 min,溶剂延时 5min;电离方式 EI;电子能量 70eV;质谱扫描范围:m/z 35~780;全扫描方式。

9. 数据处理与模式识别方法:原始 GC/MS 数据

文件,通过 Agilent MSD ChemStation 工作站转换成 NetCDF 格式,然后导入到 R2.1 的 XCMS 程序包中进行峰识别、峰过滤、峰对齐等过程,最终得到一个保留时间、质荷比和峰强度组成的三维矩阵表,将三维矩阵导入 SIMCA - P11.5 软件 (Umetrics, 瑞典) 中进行多维统计分析。采用非监督的主成分分析 (PCA) 和监督分析法如正交偏最小二乘法 (OPLS) 建模,寻找造成样本聚集和离散的主要差异变量。基于差异表达的代谢物鉴定,主要是结合 AMDIS 程序进行,利用 National Institute of Standards and Technology (NIST) 商业数据库和 Wiley Registry 代谢组数据库及

本实验室建立的标准品代谢物谱库。

10. 统计学方法:采用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,组间前后比较采用配对 t 检验,计数资料以率表示,采用 χ^2 检验分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组基本资料比较:病例组 37 例和对照组 40 例,两组在性别、年龄、体重、身高方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性,结果见表 1。

表 1 两组基本资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	性别 (男性/女性)	年龄 (岁)	体重 (kg)	身高 (cm)
对照组	40	20/20	12.87 $\pm$ 1.16	40.09 $\pm$ 2.25	141.30 $\pm$ 8.23
病例组	37	18/19	13.78 $\pm$ 1.59	44.26 $\pm$ 3.43	138.68 $\pm$ 8.80
χ^2/t		0.527	-0.847	-1.352	1.807
<i>P</i>		0.597	0.400	0.180	0.075

2. 多动症患者治疗前后多动指数比较:与病例 0 周组比较,病例 6 周组和病例 12 周组 (哌甲酯治疗 6 周和治疗 12 周后) 患者多动指数均显著降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$);与病例 6 周组比较,病例 12 组 (哌甲酯治疗治疗 12 周后) 患者多动指数显著降低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),结果见表 2。

表 2 治疗前后多动指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	多动指数	<i>t</i>	<i>P</i>
病例 0 周组	1.747 $\pm$ 0.068	6.400	0.000
病例 6 周组	1.368 $\pm$ 0.271	28.370 *	0.000
病例 12 周组	1.210 $\pm$ 0.043	2.241 **	0.035

与病例 0 周组比较, * $P < 0.01$; 与病例 6 周组比较, ** $P < 0.05$

3. 不良反应情况:儿童多动症患者在 12 周的治疗中,出现失眠 1 例,头晕 1 例,头痛 2 例,心悸 1 例,

不良反应率为 12.82%。

4. 代谢组学结果:(1) 代谢谱分析:首先使用非监督的主成分分析法——PCA,分析了对照组、病例 0 周组的尿液代谢谱,结果显示,在无监督状态下两组尿液代谢物谱不能显著区分,结果如图 1。为了进一步筛选与儿童多动症发病相关的的关键变量,采用有监督的分析方 OPLS 分析,该模型的结果显示两组代谢谱分离良好,并且该模型具有较高的解释率和预测率 ($R^2Y = 0.69$, $Q^2Y = 0.46$, 图 2)。(2) 生物标志物分析:为了寻找与儿童多动症病理状态紧密联系的差异代谢物,基于 OPLS 模型,依据权重系数 $VIP > 1$,相关系数的阈值 $|r| > 0.4$ (图 3),测得的差异代谢物,单维上进行验证 (TT 检验, $P < 0.05$),结合 AMDIS 程序,利用 NIST 商业数据库和 Wiley Registry 数据库及本实验室建立的标准品代谢物谱库,鉴定了 24 种

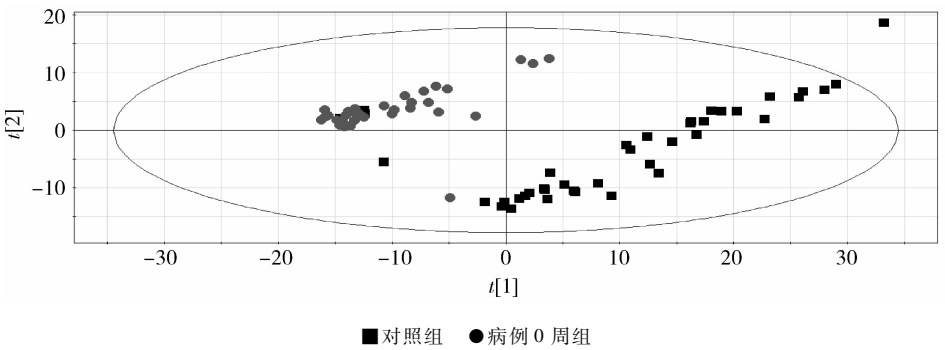


图 1 多动症病例 0 周组和对照组尿液代谢 PCA 得分图

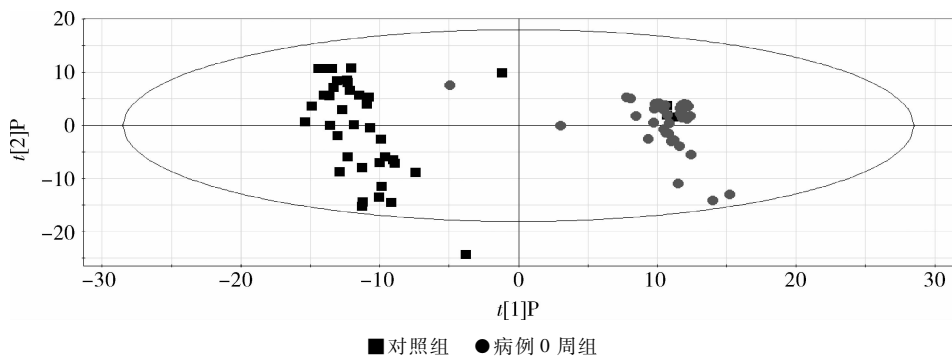


图 2 多动症病例 0 周组和对照组尿液代谢 OPLS 得分图

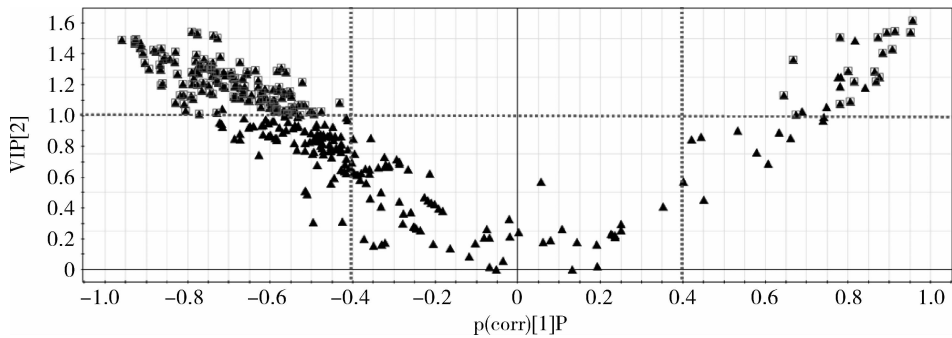


图 3 病例 0 周组和对照组尿液代谢 V - Plot 图

差异代谢物,并进行了相对浓度单维上的变化情况的考察,这 24 种有统计学意义的代谢物可作为诊断儿童多动症的潜在生物标志物,结果见表 3。

5. 哌甲酯对尿液代谢谱的影响:笔者对哌甲酯干预前病例 0 周组、干预后病例 12 周组和对照组的尿液样本采用有监督的 OPLS 代谢谱分析,结果显示病例 0 周组和对照组的尿液样本完全区分,而病例 12 周组患者的尿液样本点位于病例 0 周组和对照组的尿液样本点的中间位置,有偏离病例 0 周组,且具有回归到对照组样本点所在区域的趋势。另外,从表 3 来看,上述找到的 24 种生物标志物,经哌甲酯干预后,相对浓度的变化趋势发生了变化,差异无统计学意义,都回归了正常,结果见图 4。

6. 随时间变化的代谢谱分析:取对照组、病例 0 周组、病例 6 周组(哌甲酯干预 6 周)以及病例 12 周组(哌甲酯干预 12 周)样本 PC1 和 PC2 的 score 得分值的平均值做 PLS - DA 代谢谱,发现病理组样本从 0 周开始向下偏离对照组,然后向左上到病例 6 周组,然后向右到病例 12 周组,逐渐向对照组靠近,结果见图 5。

7. 代谢通路分析:为了进一步阐明儿童多动症的代谢分布以及哌甲酯作用的靶点,表 3 中的 24 种潜在的生物标志物被导入在线系统——MetaboAnalyst

表 3 区分对照组和病例组 0 周尿液样本中的代谢物

序号	差异性物质	病例 0 周组与对照组比较变化趋势	病例 12 周组与对照组比较变化趋势
1	乙酸	↓ *	↑
2	丁酸	↑ *	↓
3	2 - 羟基丙酸	↑ *	↓
4	磷酸盐	↑ *	↓
5	甘氨酸	↓ *	↓
6	L - 乳酸	↑ *	↓
7	α - D - 吡喃甘露糖苷	↓ *	↑
8	L - 抗坏血酸	↓ *	↑
9	吡咯	↓ *	↑
10	色氨酸	↓ *	↑
11	葡萄糖	↓ *	↑
12	尿苷	↓ *	↑
13	核糖酸	↓ *	↑
14	L - 阿拉伯糖醇	↓ *	↑
15	2,3,4 - 三羟基丁酸	↓ *	↑
16	磷酸	↓ *	↑
17	甘露二糖	↓ *	↑
18	苯丙氨酸	↓ *	↑
19	尿酸	↓ *	↑
20	苯甲酸	↓ *	↑
21	L - 天冬酰胺	↓ *	↑
22	D - 乳糖	↓ *	↑
23	d - 纤维二糖	↓ *	↑
24	麦芽糖	↓ *	↑

↑ 代表病例组患者组中该代谢物含量较正常人组高, ↓ 代表病例组患者组中该代谢物量较对照组低, 病例组与对照组比较, * P < 0.01

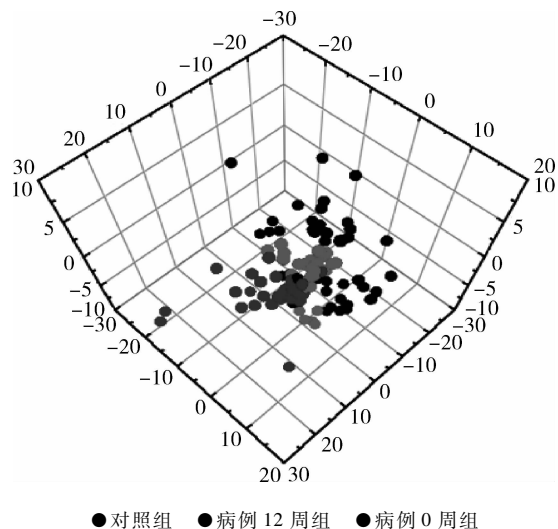


图4 多动症病例0周组、病例12周组和对照组
尿液代谢 OPLS 三维得分图

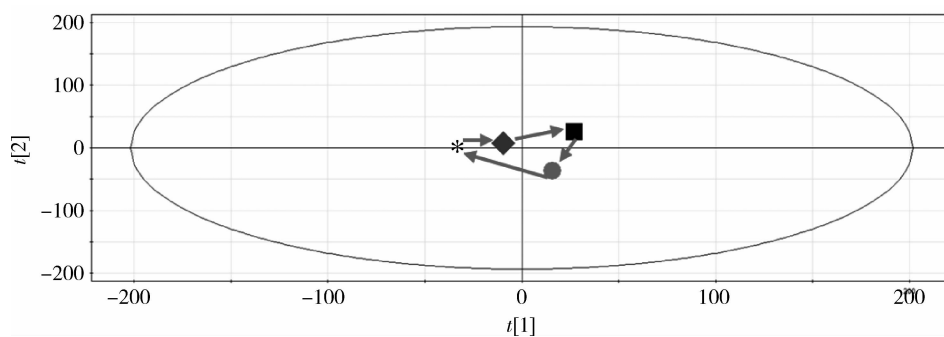


图5 多动症病理组和对照组随时间变化的代谢谱平均得分图

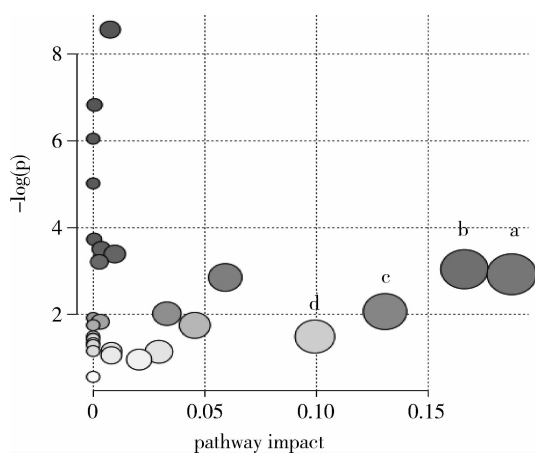


图6 MetPA 软件鉴定的代谢通路分析图

a. 甘氨酸,丝氨酸和苏氨酸代谢; b. 苯丙氨酸代谢;
c. 色氨酸代谢; d. 丙酮酸代谢

中进行代谢通路的分析。通常认为,在网络中的关键位置发生的变化对事件的发生有着严重的影响,在本研究中,将阈值设置为 0.10,高于该阈值的任何途径被分类为潜在的代谢途径^[11]。结果表明有 4 种重要的代谢通路包括甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢、丙酮酸代谢,结果见图 6。

讨 论

本研究采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)分析了儿童多动症患者尿液中内源性代谢物的变化,并分析了哌甲酯干预下的儿童多动症患者尿样代谢谱的变化过程。结果在多动症病理状态下,患儿内源性代谢物谱逐渐偏离正常儿童对照组的代谢谱,在哌甲酯干预下,使得代谢谱呈现先分离后回归正常的趋势,从代谢物的角度表明哌甲酯干预的过程中,影响了患者的代谢谱,对患者异常的代谢谱有明显地逆

丁酸、甘氨酸、乳酸等 24 种物质可作为诊断儿童多动症的潜在生物标志物。这 24 种物质涉及甘氨酸,丝氨酸和苏氨酸代谢;苯丙氨酸代谢;色氨酸代谢和丙酮酸代谢等通路,其中涉及 4 种通路最重要的物质是甘氨酸、乙酸、乳酸、色氨酸、苯甲酸以及苯丙氨酸等。

本试验发现乙酸在儿童多动症患者体内显著降低,而乳酸在儿童多动症患者体内显著升高。乳酸产生的一个途径就是,当机体组织无法获得足够的氧的情况下,乳酸的浓度会上升,因为丙酮酸脱氢酶无法及时将丙酮酸转换为乙酰辅酶 A,丙酮酸开始堆积,在这种情况下就会产生大量乳酸。而血乳酸的浓度升高时,乳酸可以经由丙酮酸、乙酰辅酶 A 途径转变为脂肪酸、胆固醇、酮体和乙酸等物质,亦可经由丙酮酸,通过氨基转换作用生成丙氨酸,参与蛋白质代谢,因此,乙酸既是丙酮酸的代谢产物又是乳酸的代谢产物,此研究表明丙酮酸代谢在儿童多动症发病过程中受到很大

转作用,这一结果与哌甲酯改善患儿的行为学结果相一致。基于机体整体的代谢组学研究,筛选了醋酸、

的影响。乳酸是机体供能体系的重要中间产物,它既是糖酵解供能系统的终产物,又是有氧代谢供能系统的氧化基质,乳酸水平是反映临床危重患者组织氧供需平衡的重要指标。在危重病患者中,由于呼吸衰竭、低氧等原因致使组织缺血、缺氧,无氧代谢增加,而机体组织清除乳酸能力下降,使血乳酸水平明显升高^[12]。乳酸增高能抑制中枢神经系统兴奋性,改变脑内微环境,使 pH 值降低,神经元活力降低,功能受损^[13]。

丙酮酸转化成乳酸的直接作用是防止丙酮酸在胞质内堆积,防止其堆积对糖酵解产能过程的抑制,以保证酵解过程的快速供能^[14]。如果机体存在丙酮酸代谢异常,丙酮酸氧化不足致使乙酞辅酶 A 的产生不足,最终导致乳酸的积蓄。据报道,运动时,肌肉是生成乳酸最多的部位,长时间或大强度运动时,可能因细胞膜通透性增加和(或)组织损伤而引起血乳酸升高^[15]。儿童多动症患者表现为易怒、情绪失控及冲动等行为,患儿的大脑 θ 波活动均较正常儿童增强,而 β 波活动较正常儿童减弱^[16]。作者认为有可能儿童多动症患者好动和脑电波异常导致细胞膜通透性增加和(或)组织损伤而引起患儿的乳酸升高,而乙酸既是丙酮酸的代谢产物又是乳酸的代谢产物,本研究中,患儿体内乳酸升高,不能及时的转化成乙酸,可能导致乙酸的降低。经哌甲酯 12 周的干预治疗,患儿体内升高的乳酸和降低的乙酸得到了纠正,与正常儿童比较,已经回归了正常水平,结果表明,哌甲酯干预儿童多动症的机制可能与丙酮酸代谢有关。

本试验发现甘氨酸、色氨酸以及苯丙氨酸在儿童多动症患者体内显著降低,表明氨基酸代谢在儿童多动症发病过程中受到很大的影响。据报道,甘氨酸脱氨基后的碳链骨架进行氧化分解,供给机体能量,改善能量合成方式;甘氨酸是合成谷胱甘肽的底物,可促进抗氧化物质 GSH 的合成,清除产生的自由基,减少乳酸的产生,减轻细胞损伤^[16]。苯丙氨酸在苯丙氨酸羟化酶催化生成络氨酸,络氨酸在肾上腺髓质和神经组织经酪氨酸羟化酶催化生成儿茶酚胺(多巴胺、去甲肾上腺素及肾上腺素的统称)。正常条件下,作为儿茶酚胺类物质底物的络氨酸水平升高,产生儿茶酚胺的量也应相应增加。然而,在应激状态下,尽管脑组织中酪氨酸羟化酶的活性增加和水平上升,但大脑去甲肾上腺素的水平却在下降,分析与体内去甲肾上腺素消耗增加有关^[18,19]。

色氨酸属于必需氨基酸,在生理学和生物化学中

起关键作用,作为人体的必需氨基酸,它可以减少应激反应和炎症反应。作为烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)的前体,代谢物——NAD 通常用于满足代谢和能量的需要^[20,21]。另外,色氨酸经羟化酶催化,羟化生成 5-羟色氨酸,在脱羧酶催化下脱羧生成 5-羟色胺(5-HT)^[22],而 ADHD 患儿的脑内 5-HT 是不足的,说明本研究中色氨酸浓度的减少,很可能致使 5-HT 的生成减少。苯丙氨酸和色氨酸的最终代谢产物是苯甲酸,儿童多动症发病时,苯丙氨酸代谢和色氨酸代谢发生异常,可以解释本研究中,患儿体内色氨酸、苯丙氨酸以及苯甲酸的浓度降低的原因。

儿童多动症发病的一个重要原因是患儿的母亲在怀孕时,可能患有高血压、贫血等致使儿童脑组织受到影响,使得患儿脑内多巴胺、5-羟色胺、去甲肾上腺素等神经递质浓度降低,抑制中枢神经系统活动的作用减弱,导致孩子容易冲动、容易分心以及活动过度^[23]。因此,本研究中,甘氨酸、色氨酸以及苯丙氨酸浓度的降低可能与儿童多动症的发病有一定的关系。哌甲酯作为治疗 ADHD 常用的药物,作用机制可能是促使大脑神经细胞间隙释放去甲肾上腺素,并阻止其重吸收,同时减少去甲肾上腺素的灭活,目的是增加细胞间隙的去甲肾上腺素浓度,抑制中枢神经系统活动的作用增强,使得患儿的症状得以改善。哌甲酯的作用机制与苯丙氨酸等物质的体内代谢途径不谋而合,而且患儿经过 12 周的哌甲酯治疗,患儿体内降低的甘氨酸、色氨酸、苯甲酸以及苯丙氨酸得到了纠正,与正常儿童比较,已经回归了正常水平,进一步说明,哌甲酯治疗 ADHD 的机制可能还与甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸、色氨酸等氨基酸代谢异常有关。

综上所述,ADHD 发病可能与甘氨酸,丝氨酸和苏氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢和丙酮酸代谢等代谢通路异常相关,哌甲酯调节了 ADHD 的这种代谢紊乱。代谢组学从机体整体的角度,为探索哌甲酯治疗 ADHD 的作用机制提供了新的思路。

参考文献

- 1 罗洁兰. 奥氮平与哌醋甲酯治疗儿童多动症的疗效对比分析[J]. 吉林医学, 2015,36(17):3827-3828
- 2 苏林雁,李雪荣. 儿童注意缺陷多动障碍治疗进展[J]. 中华儿科杂志,1999,37(3):582
- 3 郭艳,施新宇. 儿童多动症患者家庭环境及其父母养育方式的探讨[J]. 实用医技杂志,2005,12(24):3702-3703
- 4 郭田友,郭兰婷. 伴品行障碍多动症儿童的临床观察[J]. 中国心

- 理卫生杂志,2003,57(7):431-452
- 5 纪平,陈盛菊. 儿童多动症 135 例临床治疗分析[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(26):3171-3172
 - 6 占雪梅,周云芳,邹晓华. 托莫西汀与利他林治疗儿童多动症的临床对照研究[J]. 中国药业,2009,18(11):72-73
 - 7 Rochfort S. Metabolomics reviewed: a new "omics" platform technology for systems biology and implications for natural products research[J]. J Nat Prod, 2005, 68(12):1813-1820
 - 8 Nicholson JK, Holmes E, Kinross JM, *et al.* Metabolic phenotyping in clinical and surgical environments[J]. Nature, 2012,491(7424):384-392
 - 9 杨雯晴,蒋海强,李运伦,等. 卡托普利干预自发性高血压大鼠血清代谢组学研究[J]. 中国药理学通报,2016,32(7):998-1003
 - 10 中华医学会精神科分会. 中国精神障碍分类与诊断标准[M]. 3版. 济南:山东科学技术出版社,2001:151
 - 11 Wang XJ, Yang B, Zhang AH, *et al.* Potential drug targets on insomnia and intervention effects of Jujuboside A through metabolic pathway analysis as revealed by UPLC/ESI-SYNAPT-HDMS coupled with pattern recognition approach[J]. J Proteom, 2012, 75(4):1411-1427
 - 12 俞建峰,刘文明,蒋建红,等. 乳酸代谢及乳酸清除率对重症中暑患者预后的评估价值[J]. 实用临床医药杂志,2015,19(23):44-47
 - 13 王静. 乳酸在运动型中枢疲劳中的作用及机制研究[D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院,2005,5:41
 - 14 王凤阳,刘艳庭,张海峰,等. 递增负荷运动下血乳酸丙酮酸的动态变化规律及乳酸阈机制探讨[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(6):3193-3196
 - 15 魏源,王革,王翔. 试论乳酸代谢与运动训练的关系[J]. 湖南工程学院学报,2012,12(4):76-80
 - 16 张风华,洪昭毅. 注意缺陷多动障碍的神经生物学研究进展[J]. 中国行为医学科学,2001,10(6):629-631
 - 17 李腾,彭靖,吕尚军,等. 甘氨酸对烧伤大鼠心肌细胞能量代谢的影响[J]. 重庆医学,2012,41(33):3476-3477
 - 18 Kopple JD. Phenylalanine and tyrosine metabolism in chronic kidney failure[J]. J Nutr,2007,137(Suppl 1):1586-1590
 - 19 Rath T, Roth E, Keidl R. Phenylalanine: total amino acid ratio in 45 burn patients[J]. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg,1987,21(3):297-300
 - 20 Liu Y, Zhang L, Wei S, *et al.* Song, endogenous L-carnosine level in diabetes rat cardiac muscle[J]. Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2016,2016:1-7
 - 21 Shui SF, Shen SJ, Huang RQ, *et al.* Metabonomic analysis of biochemical changes in the plasma and urine of carrageenan-induced rats after treatment with Yi-Guan-Jian decoction[J]. J Chromatography B, 2016, 1033-1034:80-90
 - 22 魏涌. 医学生物化学[M]. 北京:世界图书出版公司,1998:208-216
 - 23 伏洁,周士新,刘光陵,等. 儿童多动症遗传因素的研究进展[J]. 中国全科医学,2006,9(9):758-761

(收稿日期:2017-04-21)

(修回日期:2017-05-22)

(上接第 57 页)

- 9 Khanna S, Biswas S, Shang Y, *et al.* Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice[J]. PLoS One, 2010, 5(3):e9539
- 10 贾连城,盛巡,孙明杰,等. 回阳生肌膏治疗慢性难愈性皮肤溃疡疗效观察及作用机制探讨[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(10):9-12
- 11 陆树良,谢挺,牛轶雯,等. 糖尿病合并创面难愈的机制研究[J]. 药品研究,2011,8(7):17-21
- 12 朱加明,刘志红,黄燕飞,等. 大黄酸对 db/db 小鼠糖尿病肾病疗效的观察[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2002,11(1):3-10
- 13 贾连成. 吕培文学术思想总结及应用回阳生肌法治疗阴证皮肤溃疡的临床研究[D]. 北京:北京中医药大学,2016
- 14 王广宇,王伏声,丁毅,等. 回阳生肌膏对慢性皮肤溃疡形态变化的初步研究[J]. 中国医药导报,2014,11(22):90-93
- 15 Reddy MA, Zhuo Chen, Park JT, *et al.* Regulation of inflammatory phenotype in macrophage by a diabetes-induced long noncoding RNA[J]. Diabetes, 2014, 63:4249-4261
- 16 Tang Y, Zhang MJ, Hellmann J *et al.* Proresolution therapy for the treatment of delayed healing of diabetic wounds[J]. Diabetes, 2013, 60(2):618-627
- 17 Zhou D, Huang C, Lin Z, *et al.* Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways[J]. Cell Signal, 2014, 26(2):192-197
- 18 Mirza RE, Fang MM, Ennis WJ, *et al.* Blocking interleukin-1 β induces a healing-associated wound macrophage phenotype and improves healing in type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2013, 62(7):2579-2587
- 19 李光善,李萍,盛巡,等. 黄芪多糖、桂皮醛、川芎嗪对实验性糖尿病大鼠创面成纤维细胞增殖作用的影响[J]. 中医基础理论杂志,2004,10(4):20-22
- 20 李萍,何秀娟,张颖,等. 黄芪多糖对细胞增殖及对血管内皮细胞与白细胞粘附作用的影响[J]. 中国病理生理杂志,2004,20(9):1677-1680
- 21 张颖,王芳,李萍,等. 回阳生肌膏提取物对慢性皮肤溃疡创缘成纤维细胞的促增殖作用及对 c-fos、c-myc 表达的影响[J]. 中西医结合外科杂志,2006,12(4):391-394
- 22 李萍,李光善,韩秋萍,等. 疡愈涂剂对糖尿病大鼠创面 PCNA 表达及成纤维细胞的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,23(3):44-47
- 23 Seebach E, Freischmidt H, Holschbach J, *et al.* Mesenchymal stroma cells trigger early attraction of M1 macrophages and endothelial cells into fibrin hydrogels, stimulating long bone healing without long-term engraftment[J]. Acta Biomater, 2014, 10(11):4730-4741
- 24 He L, Marneros AG. Macrophages are essential for the early wound healing response and the formation of a fibrovascular scar[J]. Am J Pathol, 2013, 182:2407-2417

(收稿日期:2017-05-09)

(修回日期:2017-05-29)