

创伤性脊髓损伤患者血清和尿液的代谢组学分析

宋佳婷, 陈建敏, 王柯文, 黄蓝莹, 徐森明, 桂裕昌, 许建文

<https://doi.org/10.12307/2024.426>

投稿日期: 2023-06-27

采用日期: 2023-07-29

修回日期: 2023-08-16

在线日期: 2023-08-26

中图分类号:

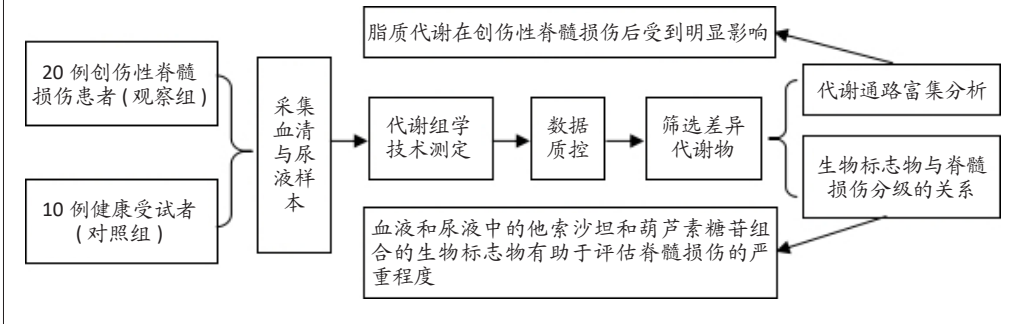
R459.9; R318; R651.2

文章编号:

2095-4344(2024)23-03709-06

文献标识码: A

文章快速阅读: 创伤性脊髓损伤患者血清和尿液代谢组学分析及代谢产物与脊髓损伤分级的关系



文题释义:

创伤性脊髓损伤美国脊髓损伤协会(ASIA)分级: A级为完全性损伤, 骶段(S₄₋₅)无任何运动及感觉功能保留; B级为不完全性损伤, 在神经损伤平面以下, 包括骶段(S₄₋₅)存在感觉功能, 但无任何运动功能; C级为不完全性损伤, 在神经损伤平面以下有运动功能, 保留一半以上的关键肌肌力<3级; D级为不完全性损伤, 在神经损伤平面以下有运动功能, 保留至少一半的关键肌肌力≥3级; E级为正常, 感觉和运动功能正常。

代谢产物: 生物体内实现代谢过程的小分子有机物(分子质量<1 000 Da), 初级代谢产物直接参与细胞的正常生长、发育、繁殖; 次级代谢产物不直接参与这些过程, 但通常具备重要的生理、生化功能。

摘要

背景: 创伤性脊髓损伤在临床上主要依赖于量表评估与影像学检查, 但对于损伤程度的预后评估具有一定局限性, 利用代谢组学技术进行生物标志物筛选, 对于估计病变范围、损伤与恢复程度以及开发新疗法具有重要意义。

目的: 使用代谢组学技术来表征创伤性脊髓损伤患者的代谢特征, 探寻潜在的生物标志物及失调的代谢途径。

方法: 收集20例创伤性脊髓损伤患者(观察组)和10例健康受试者(对照组)的血清和尿液样本, 进行代谢物分析, 然后利用多元变量统计分析进行数据处理, 筛选差异代谢物。通过MetaboAnalyst软件进行代谢通路富集, 应用logistic回归构建生物标志物组合模型, 并分析其与美国脊髓损伤协会(ASIA)分级的关系。

结果与结论: 两组受试者的血清和尿液中分别检测出160种和73种具有显著差异的代谢物。通路富集分析显示, 创伤性脊髓损伤后脂质代谢出现明显的紊乱, 包括鞘脂类、亚油酸、 α -亚麻酸和花生四烯酸代谢以及糖基磷脂酰肌醇生物合成。识别出他索沙坦和葫芦素糖苷这组生物标志物, 并且二者构成的代谢物组合在血清和尿液中的水平与ASIA分级存在相关性。由此可见, 代谢组学技术为进一步理解创伤性脊髓损伤病理机制、筛选治疗靶点提供帮助。识别出的代谢生物标志物组合可能为评估创伤性脊髓损伤的严重程度提供参考。

关键词: 创伤性脊髓损伤; 代谢组学; 生物标志物; 差异代谢物; 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱

Metabolomics analysis of serum and urine in patients with traumatic spinal cord injury

Song Jiating, Chen Jianmin, Wang Kewen, Huang Lanying, Xu Senming, Gui Yuchang, Xu Jianwen

Department of Rehabilitation Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Song Jiating, Master candidate, Physician, Department of Rehabilitation Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Xu Jianwen, MD, Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, Department of Rehabilitation Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Abstract

BACKGROUND: Traumatic spinal cord injury primarily relies on scale assessment and imaging examinations in clinical practice. However, there are limitations in predicting the prognosis of the injury. Therefore, the use of metabolomics technology for biomarker screening is significant for estimating the extent of

广西医科大学第一附属医院康复医学科, 广西壮族自治区南宁市 530021

作者简介: 宋佳婷, 女, 1996年生, 陕西省咸阳市人, 汉族, 广西医科大学在读硕士, 执业医师, 主要从事脊髓损伤、脑卒中疾病的诊疗及临床研究。

通讯作者: 许建文, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 广西医科大学第一附属医院康复医学科, 广西壮族自治区南宁市 530021

<https://orcid.org/0000-0002-8095-591X>(许建文)

基金资助: 国家自然科学基金(81960417), 项目负责人: 许建文; 广西重点研发计划项目(桂科AB20159027), 项目负责人: 许建文、桂裕昌; 广西自然科学基金青年科学基金项目(2022GXNSFBA035545), 项目负责人: 桂裕昌; 广西研究生教育创新计划项目(YCB2022082), 项目负责人: 徐森明

引用本文: 宋佳婷, 陈建敏, 王柯文, 黄蓝莹, 徐森明, 桂裕昌, 许建文. 创伤性脊髓损伤患者血清和尿液的代谢组学分析[J].

中国组织工程研究, 2024, 28(23):3709-3714.



damage, injury and recovery, as well as developing new therapies.

OBJECTIVE: To characterize the metabolic features of patients with traumatic spinal cord injury using metabolomics technology and explore potential biomarkers and disrupted metabolic pathways.

METHODS: Serum and urine samples were collected from 20 patients with traumatic spinal cord injury (observation group) and 10 healthy subjects (control group). Metabolites were analyzed and multivariate statistical analysis was then performed for data processing to screen differential metabolites. Metabolic pathway enrichment was performed using MetaboAnalyst software. Logistic regression was applied to construct a biomarker combination model, and its relationship with the American Spinal Injury Association grading was analyzed.

RESULTS AND CONCLUSION: Significant differences in 160 and 73 metabolites were detected in the serum and urine samples of the two groups, respectively. Pathway enrichment analysis showed evident disturbances in lipid metabolism after traumatic spinal cord injury, including sphingolipid, arachidonic acid, α -linolenic acid, and arachidonic acid metabolism, as well as glycerophospholipid and inositol phosphate biosynthesis. The combination of two identified biomarkers, telmisartan and quercetin glycoside, showed a correlation with the American Spinal Injury Association grading in both serum and urine levels. Thus, metabolomics technology provides assistance in further understanding the pathological mechanisms of traumatic spinal cord injury and screening therapeutic targets. The identified metabolic biomarker combination may serve as a reference for assessing the severity of traumatic spinal cord injury.

Key words: traumatic spinal cord injury; metabolomics; biomarker; differential metabolites; ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 81960417 (to XJW); Guangxi Key Research and Development Program, No. GuiKeAB20159027 (to XJW and GYC); Guangxi Natural Science Foundation for the Youth, No. 2022GXNSFBA035545 (to GYC); Innovation Project of Guangxi Graduate Education, No. YCBZ2022082 (to XSM)

How to cite this article: SONG JT, CHEN JM, WANG KW, HUANG LY, XU SM, GUI YC, XU JW. Metabolomics analysis of serum and urine in patients with traumatic spinal cord injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2024;28(23):3709-3714.

0 引言 Introduction

创伤性脊髓损伤是一种临床常见的神经系统疾患，具有高发病率、高致残率的特点^[1]。由于神经回路的破坏，患者会出现损伤水平以下不同程度的功能障碍，严重影响患者的身心健康及生活质量，给家庭及社会带来巨大的负担^[2]。尽管在全球范围已开展了大量的临床及基础研究，但创伤性脊髓损伤的病理机制仍未阐明，康复策略尚需进一步完善^[3]。大量证据表明，脊髓受损严重程度评估将有利于患者个体化康复方案的制定^[4]。目前，创伤性脊髓损伤严重程度评估主要依赖于评定量表以及磁共振等检查手段，但量表结果常受主观因素的影响，辅助检查受到现场环境、仪器设备、体内金属等情况的限制^[5]。如能识别一组与创伤性脊髓损伤严重程度相关的体液生物标志物，将对阐明病理机制和优化康复方案具有重要的价值^[4]。

代谢组学是继基因组学和蛋白组学之后的一门新兴学科，通过分析和定量内源性代谢物来确定体内系统代谢和病理变化。代谢物是细胞活动的最终产物，基因与蛋白层面的有效微小变化会在代谢水平上得到放大，从而使检测更加容易，检测的结果也能够更加真实地反映疾病的病理过程^[6-7]。近年来，代谢生物标志物在创伤性脑损伤、脑卒中、强直性脊柱炎等疾病中已广泛用于反映疾病或损伤的严重程度，但在创伤性脊髓损伤领域的研究仍较少^[8-9]。因此，该研究拟基于代谢组学技术检测创伤性脊髓损伤患者血清和尿液代谢谱的变化，探寻差异代谢物及紊乱的代谢通路，识别与损伤程度相关的生物标志物。

1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 病例-对照研究，使用多元变量统计分析进行数据处理，利用 logistic 回归构建模型，运用十折交叉法验证模型的稳定性^[10]。

1.2 时间及地点 实验于 2022 年 12 月至 2023 年 5 月在广西医科大学第一附属医院康复医学科完成。

1.3 对象 该研究通过广西医科大学第一附属医院伦理委员

会审查 (批准文号: 2022-K143-01)。选取 2022 年 12 月至 2023 年 5 月期间在广西医科大学第一附属医院康复医学科住院的 20 例创伤性脊髓损伤患者作为观察组。

纳入标准: ①符合美国脊髓损伤协会 (American Spinal Injury Association, ASIA) 制定的《脊髓损伤神经学分类国际标准》(2019 版)^[11-12]，损伤节段以及损伤程度分级均通过神经学检查确定; ②生命体征平稳，神志清醒; ③年龄 18-75 岁。

排除标准: ①既往神经系统疾病史; ②已知恶性肿瘤; ③肾功能不全; ④手术或近几个月骨骼肌肉损伤。

同期招募 10 例与观察组年龄、性别、身体质量指数相匹配的健康志愿者作为对照组。

所有受试者均已签署知情同意书。两组受试者的年龄、性别、体质量指数比较，差异无显著性意义 ($P > 0.05$)，具有可比性，见表 1。

表 1 | 两组受试者一般资料

Table 1 | General information of two groups of participants

指标	观察组 (n=20)	对照组 (n=10)	P 值
年龄 [中位数 (四分位数间距), 岁]	39 (30.75-56.5)	30 (26-43)	0.198 ^a
体质量指数 ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.73 $\pm$ 3.54	23.16 $\pm$ 2.19	0.129 ^b
性别 (n/%)			
男	13/65	7/35	0.605 ^c
女	7/35	3/15	
病程 [中位数 (四分位数间距), 月]	3 (1-4)	-	-
损伤节段 (n/%)			
颈段	7/35	-	-
胸段	10/50	-	-
腰段	3/15	-	-
ASIA 分级 (n/%)			
A 级	4/20	-	-
B 级	5/25	-	-
C 级	6/30	-	-
D 级	5/25	-	-

表注: ^a 秩和检验, ^b 独立样本 t 检验, ^c Fisher 精确检验, “-”表示空值。ASIA: 美国脊髓损伤协会

1.4 检测方法

1.4.1 样本采集和处理 血清和尿液样本都是在禁食 10 h 后的清晨采集的。非促凝管采血后室温静置半小时，再在 4 ℃下

以 3 000 r/min 离心 5 min。尿液采集后在 4 °C 下以 1 000 r/min 离心 10 min。所有样本均离心后取上清液分装,置于 -80 °C 冰箱保存。

1.4.2 样本检测 待测样本在 4 °C 下解冻、离心、过滤后转移到进样瓶中。质量控制样品 (quality control, QC) 的制备是从每个尿液或血清样品中各取 10 μ L 混合而成,用于监测系统的稳定性和样品的可重复性。使用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF/MS) 液质联用仪 (Waters 公司, 美国) 对两组样品进行代谢谱分析,并在 Waters ACQUITY UPLC 系统上进行代谢产物的色谱分离。

1.4.3 色谱条件 采用 BEH-C18 色谱柱 (内径 $\times$ 长度: 2.1 mm $\times$ 100 mm, 粒径: 1.7 μ m, 色谱级, Waters 公司, 美国) 进行色谱分离,其中流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液,流动相 B 为 0.1% 甲酸乙腈水溶液。流速设置为 0.4 mL/min,柱温控制在 45 °C,进样体积为 5 μ L。

1.4.4 质谱条件 XevoG2-XS QTOF-MS 质谱仪 (Waters 公司, 美国) 用于数据采集。采用电喷雾电离源,在正 / 负离子模式下扫描和质谱分析。亮氨酸-脑啡肽作为准确质量校准物,质量浓度为 500 ng/mL,流速为 10 μ L/min。氮气被用作锥孔气体和去溶剂化气体。

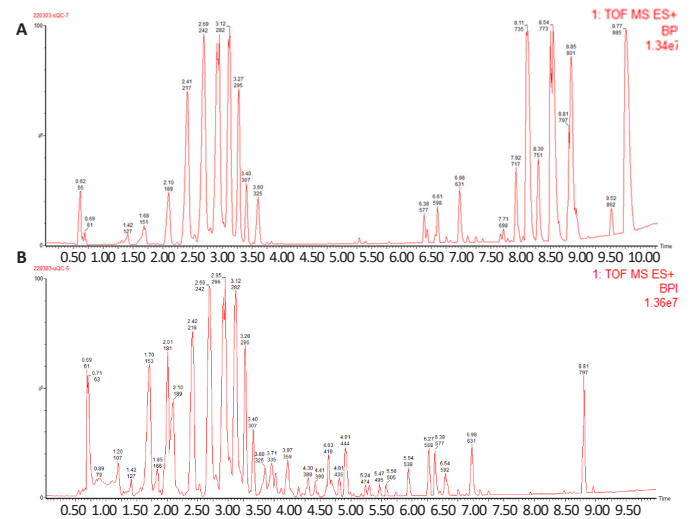
1.4.5 数据分析 原始数据经 Masslynx 软件 (4.1 版本) 提取和转换,通过 Progenesis QI 软件 (2.4 版本) 进行峰采集、对比和归一化,最后导入 EZinfo 软件 (3.0 版本) 进行主成分分析 (principle component analysis, PCA),建立 S 型统计得分投影图 (S-plot 图) 来识别观察组和对照组之间的差异代谢物。同时满足变量投影重要性 (variable important for the projection, VIP) > 1, $P < 0.05$ 和两组间变化倍数 (fold change, FC) ≥ 2 的代谢产物被识别为差异代谢物^[12]。将差异代谢物结果导入 MetaboAnalyst 软件 (5.0 版本) 进行通路富集分析。

1.4.6 生物标志物的筛选 将血清和尿液中的差异代谢物取交集,筛选结果通过 HMDB (<http://www.hmdb.ca/>) 数据库进行化合物鉴定以明确具体成分。绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析筛选出的化合物对于区分两组人群的灵敏度和特异度。以 ROC 的曲线下面积 (receiver operating characteristic, AUC) > 0.7 作为评价阈值。将化合物的含量与 ASIA 等级进行相关性分析,明确其与严重程度关系。同时,采用十折交叉验证评价预测模型的稳定性。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 23.0 软件及 R4.2.3 软件进行统计分析,GraphPad Prism 8.0 进行绘图。计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不符合正态分布则以中位数 (四分位数间距) 表示。定量数据的两组间比较采用独立样本 t 检验或秩和检验。计数资料的比较采用 Fisher 精确检验。代谢物含量与 ASIA 分级的相关性采用 Spearman 相关分析或偏相关分析。所有统计检验均为双尾检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。文章统计学方法已经通过广西医科大学专家审核。

2 结果 Results

2.1 代谢物分析和总离子流色谱 血清和尿液 QC 样品经过衍生和 UPLC-Q-TOF/MS 分析得到总离子流色谱图。由图中色谱轮廓可知两组受试者的血清和尿液中有多种代谢物存在明显差异,提示创伤性脊髓损伤导致体内代谢环境明显失调。这些谱峰所代表的代谢物即为差异代谢物,见图 1。

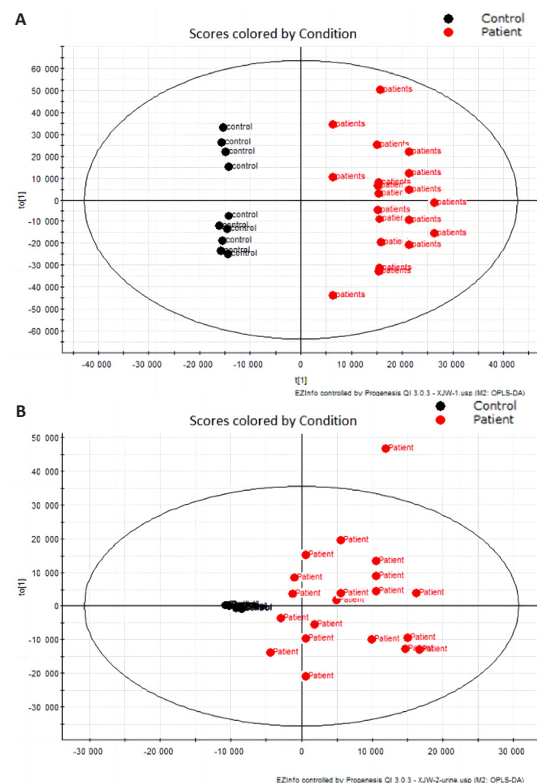


图注: 图 A 为血清样品; B 为尿液样品

图 1 | 质量控制样品 (QC) 的总离子流色谱图

Figure 1 | Total ion chromatogram of quality control samples

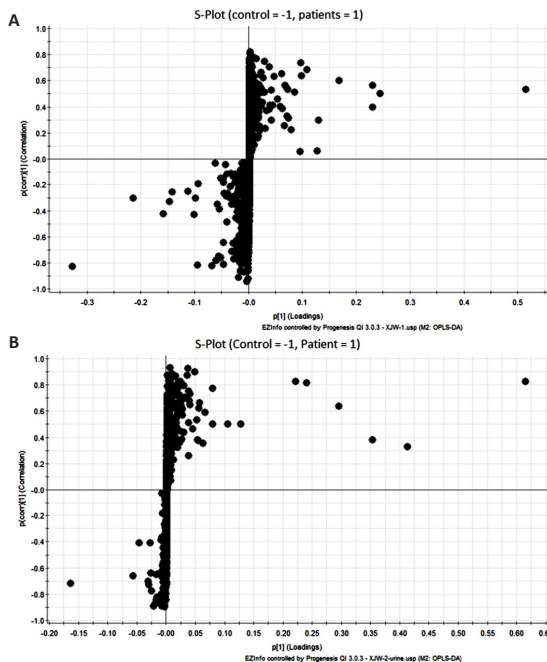
2.2 数据多元统计分析结果 PCA 得分图显示,观察组和对照组的血清和尿液样本均可明显区分,提示两组人群的代谢产物存在显著性差异,见图 2。如 S-plot 图所示,距离原点越远表示该代谢物对分组的贡献越大,见图 3。根据 VIP > 1.0, $P < 0.05$ 和 FC ≥ 2 的标准,血清和尿液中分别鉴定出 160 种和 73 种具有显著性差异的代谢物。



图注: 图 A 为血清 PCA 得分图; B 为尿液 PCA 得分图

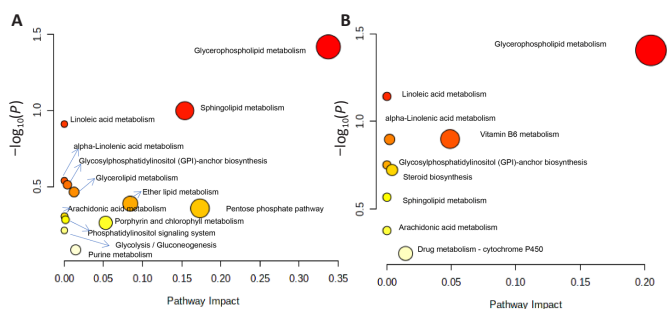
图 2 | 主成分分析 (PCA) 得分图

Figure 2 | Principal component analysis score plot



图注：图A为血清S-plot图；B为尿液S-plot图。图3 | S型统计得分投影图(S-plot图) Figure 3 | S-plot

2.3 代谢通路分析 利用 MetaboAnalyst 软件对显著性差异代谢物进行通路富集，探寻创伤性脊髓损伤后紊乱的代谢通路，并将结果进行可视化，见图 4。结果表明，鞘脂代谢、亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、糖基磷脂酰肌醇生物合成、花生四烯酸代谢这 5 条通路在创伤性脊髓损伤后的血清及尿液中均发生显著变化。



图注：图 A 为血清代谢通路预测图，B 为尿液代谢通路预测图；每一个气泡代表一条通路，横轴和气泡大小表示该通路的影响值，纵轴和气泡颜色表示该通路富集分析计算的 $-\log(P)$ 值

图 4 | 代谢通路预测图 Figure 4 | Metabolic pathway prediction diagram

2.4 生物标志物的筛选 将血清及尿液的检测结果取交集，通过 HMDB 数据库鉴定后识别出芳基硫酸盐、他索沙坦和葫芦素糖苷这 3 种化合物，见图 5。由于芳基硫酸盐在血清（上调）及尿液（下调）中的表达趋势不同，予以排除，仅保留他索沙坦和葫芦素糖苷这 2 种代谢物，见表 2。

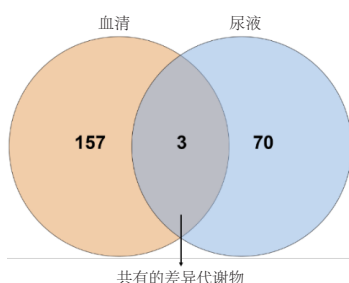


图 5 | 创伤性脊髓损伤患者血清和尿液中的差异代谢物交集 Figure 5 | The intersecting metabolites between the serum and urine in patients with traumatic spinal cord injury

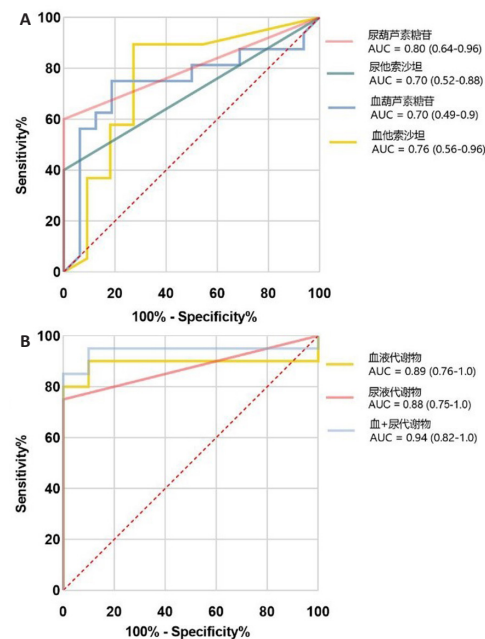
表 2 | 脊髓损伤患者血清及尿液差异代谢物交集列表

Table 2 | Serum and urine intersecting metabolites in patients with spinal cord injury

编号	样本	m/z	保留时间 (min)	色谱峰宽 (min)	观察组与对照组	化学式	质谱中分子质量偏差 (ppm)	化合物代码	代谢产物
1	血清	833.45	8.18	0.07	↑ ^a	C ₄₃ H ₇₀ O ₁₄	1.46	HMDB0038350	葫芦素糖苷
	尿液		8.10	0.06	↑ ^a		0.69		
2	血清	453.21	6.43	0.08	↑ ^a	C ₂₃ H ₂₁ N ₇ O	-0.10	HMDB0015439	他索沙坦
	尿液		6.89	0.07	↑ ^a		4.39		
3	血清	325.03	4.35	0.08	↑ ^b	C ₁₂ H ₁₄ O ₇ S	3.02	HMDB0060031	芳基硫酸盐
	尿液		8.82	0.12	↓ ^b		3.56		

表注：组间代谢物差异采用独立样本 t 检验。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

2.5 生物标志物的验证 ROC 曲线分析结果提示葫芦素糖苷在尿液中的 AUC 为 0.80，血清中为 0.70；他索沙坦在尿液中的 AUC 为 0.70，血清中为 0.76，见图 6A。实施 Logistic 回归拟合后，葫芦素糖苷和他索沙坦的联合 AUC 在血清中为 0.89，尿液中为 0.88。将血清和尿液的检测结果进一步拟合后，代谢物组合的 AUC 为 0.94，见图 6B。这些结果提示，血清和尿液中的葫芦素糖苷和他索沙坦对于两组人群具有较好的区分性能，二者联合作为生物标志物时的区分性能明显高于单个化合物。十折交叉验证的结果提示一致性检验指标 (Kappa 系数) 为 0.68，准确度 (Accuracy) 为 0.86，表明该模型较为稳定。



图注：图 A 为葫芦素糖苷和他索沙坦分别在血清和尿液中的 ROC 曲线；B 为葫芦素糖苷联合他索沙坦在血清和尿液中的 ROC 曲线

图 6 | 创伤性脊髓损伤患者代谢物受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) Figure 6 | Receiver operating characteristic curve of metabolites in patients with traumatic spinal cord injury

2.6 生物标志物的表达量与损伤严重程度的关系 Spearman 相关分析提示代谢物组合与 ASIA 等级呈负相关 ($P < 0.05$)；采用偏相关分析分别控制了病程、节段以及同时控制住病程 + 节段的情况下，代谢物组合与 ASIA 等级也呈负相关，见表 3。ROC 分析结果提示，代谢物组合对于 ASIA A 级的预测性能为 0.80(0.57–1.0)，B 级为 0.56(0.26–0.86)，C 级为 0.60(0.34–0.86)，D 级为 0.70(0.47–0.93)，见图 7。以上结果提示，血清和尿液中的代谢物组合可能是表征创伤性脊髓损伤严重程度的生物标志物，并且对于 ASIA A 级和 D 级患者具有较好的预测能力。

表 3 | 代谢物组合与美国脊髓损伤协会 (ASIA) 分级的相关性分析
Table 3 | Correlation analysis between metabolite composition and American Spinal Injury Association classification

分析指标	A 组	B 组	C 组	D 组
相关系数 r	-0.54	-0.49	-0.49	-0.49
P 值	0.01	0.03	0.03	0.04

表注: A 组代表未控制病程和损伤节段; B 组代表控制病程; C 组代表控制损伤节段; D 组代表控制病程和节段

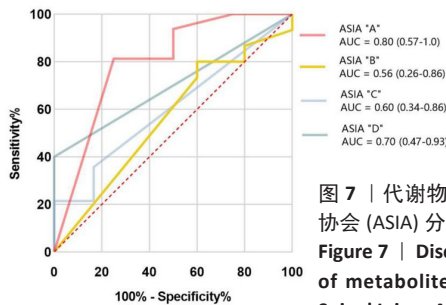


图 7 | 代谢物组合对于美国脊髓损伤协会 (ASIA) 分级的区分性能
Figure 7 | Discriminatory performance of metabolite profiles for American Spinal Injury Association classification

3 讨论 Discussion

创伤性脊髓损伤会引起神经细胞死亡或凋亡, 导致细胞代谢过程被破坏, 体内微环境失调, 严重影响神经组织的修复^[13-14]。检测释放入体液中的代谢产物将有利于了解创伤性脊髓损伤的生物学信息及损伤个体的神经恢复情况, 从而制定有效的策略以防治继发性损伤^[6, 15, 43]。在该研究中, 作者使用代谢组学技术初步探讨了创伤性脊髓损伤患者血清和尿液的代谢变化及可能机制, 并筛选出了与 ASIA 分级相关的差异代谢物。

创伤刺激会对机体的代谢网络产生影响, 使得代谢物的种类和浓度发生改变^[16]。脊髓组织需要旺盛的代谢来保证轴突伸长、突触传递等生物学过程^[17], 对损伤、局部缺血和缺氧等条件非常敏感^[7]。该研究在血清和尿液样本中分别识别出了 160 种和 73 种具有显著差异的代谢物。差异代谢物的通路富集分析结果提示脂质代谢在创伤性脊髓损伤后受到了明显的影响, 包括鞘脂代谢、亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、糖基磷脂酰肌醇生物合成、花生四烯酸代谢通路。其中, 鞘脂是一类生物活性脂质, 是细胞膜和信号转导复合物的的重要组成部分^[18-19]。一项基于创伤性脊髓损伤小鼠模型的研究表明, 鞘脂代谢异常可以促进运动神经元凋亡和炎症因子产生, 从而影响运动功能的恢复^[20-21]。亚油酸是一种不饱和脂肪酸, 其代谢异常可激活脊髓中的 TRPV1 受体, 从而触发中枢敏化和引起神经性疼痛^[22-23]。神经性疼痛是创伤性脊髓损伤最常见并发症之一^[24], 可严重影响患者的恢复。 α -亚麻酸是人体不可缺少的必需脂肪酸。研究发现创伤性脊髓损伤后 α -亚麻酸代谢紊乱与损伤局部的氧化应激和炎症反应有关。通过外源性补充 α -亚麻酸可以促进创伤性脊髓损伤大鼠的脊髓神经细胞存活和运动功能恢复^[25-26]。因此, 补充 α -亚麻酸的治疗方案可能是一种有前途的治疗方法^[27-28]。糖基磷脂酰肌醇是一种复杂的糖脂, 具有轴突导向功能, 可通过影响脊髓神经元的分化和存活来参与创伤性脊髓损伤的病理过程^[29-30]。花生四烯酸是细胞膜中的磷脂, 在创伤性脊髓损伤

后的炎症调节和继发性损伤中起到了关键作用^[31]。研究发现脊髓损伤期间花生四烯酸代谢的干预有助于神经损伤的修复, 因此, 花生四烯酸可能成为创伤性脊髓损伤的治疗靶点。上述研究结果表明, 调控代谢通路的措施可能为未来创伤性脊髓损伤的治疗提供新的契机。

创伤性脊髓损伤严重程度评估对于判断预后和制定个体化康复计划至关重要。由于临床量表评估的结果受主观因素影响较大, 因此需要其他检测来提供额外的信息^[32-33]。与神经影像学 and 神经生理学检查需要现场配备复杂的仪器设备不同, 体液标本的获取更加容易、便捷^[4]。该研究从创伤性脊髓损伤患者的血清和尿液中识别出 3 种差异代谢物, 分别是他索沙坦、葫芦素糖苷和芳基硫酸盐。他索沙坦是一种血管紧张素 II 受体阻滞剂, 可以促进血管舒张^[34], 引起直立性低血压等并发症^[35-36]。血管紧张素 II 受体阻滞剂也被证实对神经损伤后的轴突修复和功能恢复具有负面影响^[37]。葫芦素糖苷可诱导细胞周期停滞和细胞凋亡^[38], 能够通过调节氧化应激、炎症和神经递质水平来促进神经系统疾病的发生和发展^[39-40]。已有研究证实, 体外补充芳基硫酸盐可以促进中枢神经系统损伤的恢复^[41-42]。在该研究中, 芳基硫酸盐在血清中表达上调, 而在尿液中表达下调, 具体原因尚不清楚, 可能与创伤导致患者的血脑屏障通透性增加以及膀胱功能障碍有关^[43-44], 值得后续进一步探讨。该研究 ROC 曲线分析结果提示他索沙坦和葫芦素糖苷均可以准确区分观察组和对照组这两类人群, 将二者通过 logistic 回归拟合后具有更高的曲线下面积, 说明他索沙坦和葫芦素糖苷是有意义的代谢物。通过 logistic 回归将血清和尿液中的他索沙坦和葫芦素糖苷拟合成代谢物组合, 该组合水平与 ASIA 分级呈负相关, 并且能较好地区分 A 级与 D 级患者。因此, 他索沙坦和葫芦素糖苷可能成为创伤性脊髓损伤的潜在生物标志物, 通过检测血液和尿液中的代谢物组合水平可能有助于评估患者的损伤严重程度。

该研究存在一些局限性, 例如样本量少, 未控制受试者的饮食、药物, 仅从单中心招募患者等, 需要在后续的研究中通过增大样本量、扩大招募范围来进一步完善和验证。

结论: 该研究发现脂质代谢紊乱在创伤性脊髓损伤的病理机制中起到了重要作用, 并利用代谢组学技术识别出他索沙坦和葫芦素糖苷这 2 种生物标志物。此外, 血清和尿液中的代谢物组合水平与损伤严重程度之间存在联系, 可能为区分创伤性脊髓损伤患者严重程度提供一些参考。

致谢: 感谢李筱璐、郭淑慧对该研究所提供的帮助。

作者贡献: 许建文负责研究设计部分, 桂裕昌和黄莹莹负责样本收集, 王柯文负责样本处理和测定, 徐森明和宋佳婷负责软件和数据库的使用, 陈建敏负责数据和文章的校对, 宋佳婷撰写该稿件。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] GU Y, CHEN D, ZHOU L, et al. Lysine-specific demethylase 1 inhibition enhances autophagy and attenuates early-stage post-spinal cord injury apoptosis. *Cell Death Discov.* 2021;7(1):69.
- [2] ZHENG Y, MAO YR, YUAN TF, et al. Multimodal treatment for spinal cord injury: a sword of neuroregeneration upon neuromodulation. *Neural Regen Res.* 2020;15(8):1437-1450.
- [3] LAI Z, LIU H, LIU G. Meta-Analysis on the Effects of Electric Acupuncture on Neural Functional Recovery and Related Pathways of Rats after Spinal Cord Injury. *Biomed Res Int.* 2022;2022:8613384.
- [4] KYRITSIS N, TORRES-ESPÍN A, SCHUPP PG, et al. Diagnostic blood RNA profiles for human acute spinal cord injury. *J Exp Med.* 2021;218(3):e20201795.
- [5] BYKOWSKI EA, PETERSSON JN, DUKELOW S, et al. Urinary biomarkers indicative of recovery from spinal cord injury: A pilot study. *IBRO Neurosci Rep.* 2021;10:178-185.
- [6] 杨新乐, 王明, 杨成伟, 等. 脊髓损伤的代谢组学研究进展 [J]. *中国康复理论与实践*, 2018, 24(8):904-908.
- [7] WANG X, ZHANG L, SUN W, et al. Changes of Metabolites in Acute Ischemic Stroke and Its Subtypes. *Front Neurosci.* 2021;14:580929.
- [8] BANOEI MM, CASAUULT C, METWALY SM, et al. Metabolomics and Biomarker Discovery in Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma.* 2018;35(16):1831-1848.
- [9] ZHOU Y, ZHANG X, CHEN R, et al. Serum amino acid metabolic profiles of ankylosing spondylitis by targeted metabolomics analysis. *Clin Rheumatol.* 2020;39(8):2325-2336.
- [10] 梁子超, 李智炜, 赖铿, 等. 10 折交叉验证用于预测模型泛化能力评价及其 R 软件实现 [J]. *中国医院统计*, 2020, 27(4):289-292.
- [11] RUPP R, BIERING-SØRENSEN F, BURNS SP, et al. International Standards for Neurological Classification of Spinal Cord Injury: Revised 2019. *Top Spinal Cord Inj Rehabil.* 2021;27(2):1-22.
- [12] 康海琼, 周红俊, 刘根林, 等. 脊髓损伤神经学分类国际标准检查表 2019 版最新修订及解读 [J]. *中国康复理论与实践*, 2019, 25(8):983-985.
- [13] WANG R, LIU S, LIU T, et al. Mass spectrometry-based serum lipidomics strategy to explore the mechanism of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. leaves in the treatment of ischemic stroke. *Food Funct.* 2021;12(10):4519-4534.
- [14] KWON BK, STREIJGER F, FALLAH N, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarkers To Stratify Injury Severity and Predict Outcome in Human Traumatic Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma.* 2017;34(3):567-580.
- [15] FAN B, WEI Z, FENG S. Progression in translational research on spinal cord injury based on microenvironment imbalance. *Bone Res.* 2022;10(1):35.
- [16] PANG Y, LIU X, ZHAO C, et al. LC-MS/MS-based arachidonic acid metabolomics in acute spinal cord injury reveals the upregulation of 5-LOX and COX-2 products. *Free Radic Biol Med.* 2022;193(Pt 1):363-372.
- [17] 胡华辉, 黄小龙, 全仁夫, 等. 急性脊髓损伤模型大鼠血清和脊髓的代谢组学研究 [J]. *中国骨伤*, 2017, 30(2):152-158.
- [18] LIU Z, KUMAR M, KABRA A. Cucurbitacin B exerts neuroprotection in a murine Alzheimer's disease model by modulating oxidative stress, inflammation, and neurotransmitter levels. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2022;27(2):71.
- [19] JI L, CHEN S, GU G, et al. Discovery of potential biomarkers for human atherosclerotic abdominal aortic aneurysm through untargeted metabolomics and transcriptomics. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2021;22(9):733-745.
- [20] DOLCI S, MANNINO L, BOTTANI E, et al. Therapeutic induction of energy metabolism reduces neural tissue damage and increases microglia activation in severe spinal cord injury. *Pharmacol Res.* 2022;178:106149.
- [21] WANG R, SHI L, LIU S, et al. Mass spectrometry-based urinary metabolomics for the investigation on the mechanism of action of *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. leaves against ischemic stroke in rats. *J Ethnopharmacol.* 2019;241:111969.
- [22] FUJIEDA Y, UENO S, OGINO R, et al. Metabolite profiles correlate closely with neurobehavioral function in experimental spinal cord injury in rats. *PLoS One.* 2012;7(8):e43152.

- [23] PENG J, ZENG J, CAI B, et al. Establishment of quantitative severity evaluation model for spinal cord injury by metabolomic fingerprinting. *PLoS One.* 2014;9(4):e93736.
- [24] JONES ZB, REN Y. Sphingolipids in spinal cord injury. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2016;8(2):52-69.
- [25] DALKILIC T, FALLAH N, NOONAN VK, et al. Predicting Injury Severity and Neurological Recovery after Acute Cervical Spinal Cord Injury: A Comparison of Cerebrospinal Fluid and Magnetic Resonance Imaging Biomarkers. *J Neurotrauma.* 2018;35(3):435-445.
- [26] HUFFMAN EE, DONG BE, CLARKE HA, et al. Cervical spinal cord injury leads to injury and altered metabolism in the lungs. *Brain Commun.* 2023;5(2):fcad091.
- [27] MAR FM, DA SILVA TF, MORGADO MM, et al. Myelin Lipids Inhibit Axon Regeneration Following Spinal Cord Injury: a Novel Perspective for Therapy. *Mol Neurobiol.* 2016;53(2):1052-1064.
- [28] PATWARDHAN AM, SCOTLAND PE, AKOPIAN AN, et al. Activation of TRPV1 in the spinal cord by oxidized linoleic acid metabolites contributes to inflammatory hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(44):18820-18824.
- [29] LIM SN, HUANG W, HALL JC, et al. Improved outcome after spinal cord compression injury in mice treated with docosahexaenoic acid. *Exp Neurol.* 2013;239:13-27.
- [30] TANG J, ZENG X, LI H, et al. Repulsive Guidance Molecule-a and Central Nervous System Diseases. *Biomed Res Int.* 2021;2021:5532116.
- [31] MCFADDEN K, MINSHEW NJ. Evidence for dysregulation of axonal growth and guidance in the etiology of ASD. *Front Hum Neurosci.* 2013;7:671.
- [32] FUJITA Y, YAMASHITA T. The roles of RGMa-neogenin signaling in inflammation and angiogenesis. *Inflamm Regen.* 2017;37:6.
- [33] FREUND P, SEIF M, WEISKOPF N, et al. MRI in traumatic spinal cord injury: from clinical assessment to neuroimaging biomarkers. *Lancet Neurol.* 2019;18(12):1123-1135.
- [34] CHAY W, KIRSHBLUM S. Predicting Outcomes After Spinal Cord Injury. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2020;31(3):331-343.
- [35] MAILLARD MP, ROSSAT J, BRUNNER HR, et al. Tasosartan, enoltasosartan, and angiotensin II receptor blockade: the confounding role of protein binding. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000;295(2):649-654.
- [36] GROOTHUIS JT, THIJSEN DH, RONGEN GA, et al. Angiotensin II contributes to the increased baseline leg vascular resistance in spinal cord-injured individuals. *J Hypertens.* 2010;28(10):2094-2101.
- [37] JÄRVE A, TODIRAS M, LIAN X, et al. Distinct roles of angiotensin receptors in autonomic dysreflexia following high-level spinal cord injury in mice. *Exp Neurol.* 2019;311:173-181.
- [38] ASSIS AD, MASCARENHAS FNADP, ARAÚJO FA, et al. Angiotensin-(1-7) receptor Mas antagonist (A779) influenced gliosis and reduced synaptic density in the spinal cord after peripheral axotomy. *Peptides.* 2020;129:170329.
- [39] KU JM, KIM SR, HONG SH, et al. Cucurbitacin D induces cell cycle arrest and apoptosis by inhibiting STAT3 and NF-κB signaling in doxorubicin-resistant human breast carcinoma (MCF7/ADR) cells. *Mol Cell Biochem.* 2015;409(1-2):33-43.
- [40] MUTALIK SP, GUPTON SL. Glycosylation in Axonal Guidance. *Int J Mol Sci.* 2021;22(10):5143.
- [41] SOLEILHAVOUP C, TRAVAGLIO M, PATRICK K, et al. Nolz1 expression is required in dopaminergic axon guidance and striatal innervation. *Nat Commun.* 2020;11(1):3111.
- [42] Í DALI C, GROESCHEL S, MOLDOVAN M, et al. Intravenous arylsulfatase A in metachromatic leukodystrophy: a phase 1/2 study. *Ann Clin Transl Neurol.* 2021;8(1):66-80.
- [43] CRUZ CD, COELHO A, ANTUNES-LOPES T, et al. Biomarkers of spinal cord injury and ensuing bladder dysfunction. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015;82-83:153-159.
- [44] YANG H, ZHANG P, XIE M, et al. Parallel Metabolomic Profiling of Cerebrospinal Fluid, Plasma, and Spinal Cord to Identify Biomarkers for Spinal Cord Injury. *J Mol Neurosci.* 2022;72(1):126-135.

(责任编辑: MZH, ZN, WL, LWJ)