

肌苷注射液对稳定型心绞痛气虚血瘀证患者生化指标及肠道菌群影响

王怀平^{通讯作者} 魏巍 李萍 王君
青岛心血管病医院

DOI:10.32629/bmtr.v8i2.18875

[摘要] 目的：探讨肌苷注射液对稳定型心绞痛（SAP）气虚血瘀证患者的生化指标和肠道菌群影响。方法：冠心病 SAP 气虚血瘀证患者 25 例，男 10 例，女 15 例，平均（57±23）岁。入院后常规给予常规药物治疗外，同时给予 600 mg 肌苷注射液静滴，qd，5-7d。采集入院治疗前后的血液及粪便样品，比较治疗前后血液生化指标、肠道菌群的 Alpha 多样性指数及相对丰度。结果：与治疗前相比，治疗后血钙和尿酸均显著下降（P 均<0.05）。治疗前后肠道菌群结构发生显著变化，主要表现为厚壁菌门和疣微菌门相关细菌类群的相对丰度显著降低，而梭杆菌门和艾肯菌属、纤毛菌属和消化链球菌属的相对丰度显著升高（P 均<0.05）。结论：肌苷注射液治疗能改善 SAP 气虚血瘀证患者的血液生化指标及调节肠道菌群。

[关键词] 肠道菌群；肌苷；气虚血瘀；稳定型心绞痛；生化指标

中图分类号：R541.4 文献标识码：A

Effects of Inosine Injection on Biochemical Indices and Gut Microbiota in Patients with Stable Angina Pectoris and Energy Deficiency and Blood Stasis Syndrome

Huaping Wang^{Corresponding Author}, Wei Wei, Ping Li, Jun Wang

Qingdao Cardiovascular Hospital

[Abstract] Objective To investigate the effects of inosine injection on blood biochemical indices and intestinal microbiota in patients with stable angina pectoris (SAP) caused by energy deficiency and blood stasis syndrome. Methods A total of 25 patients with SAP caused by energy deficiency and blood stasis were included in the study, comprising 10 males and 15 females with an average age of 57 ± 23 years. In addition to routine pharmacological therapy, 600mg of inosine injection was administered intravenously once daily for 5-7 days. Collect blood and fecal samples before and after admission treatment, and compare the biochemical indicators in blood, the alpha diversity index and relative abundance of gut microbiota before and after treatment. Results Compared to pre-treatment levels, both blood calcium and uric acid decreased significantly ($p < 0.05$).

The structure of the intestinal microbiota changed significantly after treatment, with a marked decrease in the relative abundances of bacterial taxa associated with Firmicutes and Verrucomicrobia, alongside a significant increase in those of the phylum Fusobacteriota and genera Eikenella, Leptotrichia and Peptostreptococcus. Conclusion Inosine injection treatment can improve the blood biochemical indices of patients with SAP resulting from energy deficiency and blood stasis syndrome, while also regulating their gut microbiota.

[Key words] gut microbiota; inosine; energy deficiency and blood stasis; stable angina pectoris; Biochemical indicators

引言

冠状动脉粥样硬化性心脏病（coronary atherosclerotic heart disease, CHD），已成为威胁人类身体健康与生命安全的一大杀手，其总发病率呈逐步上升趋势^[1]。心绞痛是冠心病的一种重要临床表现形式，其病理基础为动脉粥样硬化

（atherosclerosis, AS）引起管腔狭窄、冠状动脉痉挛，从而诱发心脑血管病急症。

稳定型心绞痛（stable angina pectoris, SAP）是 CHD 的一种重要类型^[1]。中医理论认为，冠心病心绞痛属于“胸痹”“心痛”，主要病机为心脉痹阻，病位主要在心，为本（气、

血等)虚标(气滞、血瘀等)实之证^[2,3]。因此,治疗应以益气活血为主。研究表明,肌昔注射液可以在低能量、缺氧状态下维持细胞的正常代谢,同时还能参与人体能量代谢和蛋白质的合成。因此,在心绞痛治疗方面有一定作用。然而,肌昔注射液对于人体功能的调节是否有重要作用,还需要进一步研究。

研究表明,肠道微生物在AS的形成过程中也扮演了重要角色。例如,肠道微生物的某些代谢物(如氧化三甲胺)通过参与脂质代谢、血小板活化等途径激活炎症反应促进AS形成,是AS形成的重要介质^[4]。从另一方面看,肠道微生物也是CHD的重要治疗靶点及治疗效果的评价指标之一。这与张仲景在《金匱要略》中主张从脾胃论治胸痹的方法相吻合。

本研究从生化指标和肠道菌群等方面入手,探究肌昔注射液在冠心病稳定型心绞痛气虚血瘀证患者中的应用价值,以期通过平衡肠道菌群结构,改善免疫功能、减少机体炎症反应,预防心血管疾病发生提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 临床资料

2021-2023年间就诊于青岛心血管病医院老年医学科门诊且符合入院条件并自愿参加干预措施的人,共计患者25例,其中男10例,女15例;年龄45~80岁,平均(57±23)岁。纳入标准:有明确的SAP史,符合SAP的诊断标准。排除标准:(1)不稳定型心绞痛者;(2)合并急性感染、未控制的高血压、严重心律失常等重度心肺功能不全患者;(3)6个月内有严重出血性疾病或外科手术史者;(4)1个月内有急性脑梗死患者;(5)血小板计数 $<50 \times 10^9/L$;(6)AST、ALT超出正常参考值上限2倍且 $Ccr \leq 30 \text{ mL}/(\text{min} \times 1.73 \text{ m}^2)$;(7)对试验药成分过敏以及产生不良反应患者;(8)有妊娠计划或妊娠、哺乳期妇女;(9)1个月内参加其他临床试验患者;(10)酗酒或吸毒者;(11)患者依从性差;(12)主动撤回知情同意书或失访者。本研究经青岛阜外心血管病医院伦理委员会批准(审批编号:2021-QFLX-014),所有研究对象知情同意并签署书面知情同意书。

1.2 治疗方式

入院后均给予常规抗血小板、调脂稳斑、扩冠等药物治疗。同时给予600 mg肌昔注射液静脉滴注,每天1次,持续5~7天。

1.3 血液样品采集与分析

患者入院后次日空腹抽取静脉血5 mL,按照国家卫健委临检中心常规生化A(NCCL-C-01)罗氏测定方法进行相关指标检测。治疗后再次进行静脉采血及指标检测。

1.4 粪便样品采集及分析

住院患者次日清晨留取粪便。按照微生物群落(粪便)

样本采集盒,用采样勺挖取足量中段粪便样品于收集管中并浸入保存液。样品立即保存于液氮中并转移至实验室,保存于-80℃冰箱冻存。待所有粪便样本收集完毕后统一送检。按照DNeasy Powersoil Kit试剂盒说明书提取粪便样品DNA,采用Nanodrop 2000对DNA的纯度和浓度检测,并用琼脂糖凝胶电泳对DNA的完整性进行检测。使用引物对(338F' -GTACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5' -GTGGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对菌群16S rRNA基因的V3V4可变区进行扩增,PCR扩增子通过Illumina HiSeq平台进行 2×250 的双端测序。

1.5 肠道菌群分析

每个样品的双端下机序列按照DADA2的分析流程进行拼接、质控、去除嵌合体,并对序列降噪生成扩增子序列变异(Amplicon sequence variants, ASVs)^[5]。使用基于SILVA_138数据库的预训练贝叶斯机器学习分类器对ASV进行分类,并生成ASV表。所得ASV表用以计算附生菌群组成。将所得ASV表随机抽平至相同序列数(以最小样本序列数为准)后用以计算 α 及 β 多样性。其中,以Observed species和Faith PD指数来表征菌群丰富度,以Shannon指数和Simpson指数来表征菌群均匀度。

1.6 统计学方法

采用GraphPad Prism 10.1.2软件。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,结果比较采用独立样本t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。用LefSe(LDA Effect Size)分析对菌群的组成差异进行比较分析^[6]。该方法先后利用Kruskal-Wallis秩和检验和Wilcoxon秩和检验检测不同组间的细菌丰度是否存在显著差异,最后用线性判别分析(LDA)得到最终的差异物种。LDA score > 2.0 且 $P < 0.05$ 则认为治疗前后的菌群丰度存在显著差异。

2 结果

2.1 血液生化指标比较

共计测量了30个生化指标(见图1)。治疗后有3个指标水平上升(P 均 > 0.05),即LDL-C、HDL-C和CK-MB;其余27个指标水平均下降,其中血钙和尿酸水平显著下降(P 均 < 0.05)。

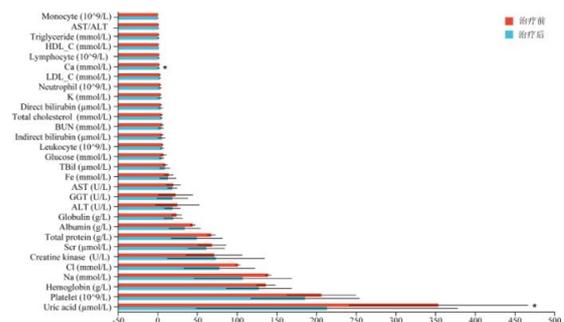


图1 肌昔注射液治疗前后人群血液生化指标比较

注: 血液生化指标条形图。注: Albumin, 白蛋白; ALT, 谷丙转氨酶; AST, 谷草转氨酶; BUN, 血尿素氮; Creatine kinase, 肌酸激酶; Direct bilirubin, 直接胆红素; GGT, 谷氨酰转移酶; Globulin, 球蛋白; Glucose, 血糖; Hemoglobin, 血红蛋白; HDL_C, 高密度脂蛋白胆固醇; Indirect bilirubin, 间接胆红素; Lymphocyte, 淋巴细胞; Leukocyte, 白细胞; LDL_C, 低密度脂蛋白胆固醇; Monocyte, 单核细胞; Neutrophil, 中性粒细胞; Platelet, 血小板; Scr, 血清肌酐; TBil, 总胆红素; Total cholesterol, 总胆固醇; Total protein, 总蛋白; Triglyceride, 甘油三酯; Uric acid, 尿酸。

2.2 肠道菌群

2.2.1 菌群多样性

治疗前后, 患者肠道菌群的 Alpha 多样性虽没有显著差异 ($P > 0.05$), 但治疗后均下降 (表 1)。其中, Faith PD 指数显著下降趋势更为明显 ($P = 0.061$)。

表 1 肌昔注射液治疗前后菌群 Alpha 多样性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Observed species	Faith PD	Shannon	Simpson
治疗前	463.57±230.24	41.29±18.20	5.23±1.40	0.89±0.17
治疗后	372.64±179.20	33.16±13.87	4.60±1.53	0.83±0.21
P	0.094	0.061	0.076	0.18

2.2.2 菌群主要组成 见表 2。

治疗前后患者肠道菌群主要以厚壁菌门、变形菌门、放线菌门和拟杆菌门为主。其中, 厚壁菌门和放线菌门的相对丰度在治疗后下降, 而变形菌门和拟杆菌门的相对丰度在治疗后上升。表明肠道菌群发生了变化。

表 2 肌昔注射液治疗前后肠道菌群的门水平组成分析 [% , M (P₂₅, P₇₅)]

	厚壁菌门	变形菌门	放线菌门	拟杆菌门	Others
治疗前	56.61 (46.87, 71.06)	17.56 (0.42, 38.67)	15.21 (4.00, 21.95)	8.95 (1.32, 13.30)	1.67 (0.04, 1.24)
治疗后	42.10 (20.40, 53.21)	28.98 (2.70, 54.85)	10.22 (2.02, 11.14)	18.48 (0.27, 22.81)	0.22(0.0, 3, 0.15)

2.2.3 菌群组成比较

进一步用 LefSe 分析对治疗前后的肠道菌群丰度进行了比较分析。肌昔注射液治疗前后, 共有 52 个细菌类群存在显著差异 (LDA score > 2.0): 44 个类群治疗后丰度显著下降, 主要包括厚壁菌门 (Firmicutes) 和疣微菌门 (Verrucomicrobia) 的细菌类群, 如经黏液真杆菌属 (Blautia)、阿克曼氏菌属 (Akkermansia) 和瘤胃球菌属 (Ruminococcus) 等; 8 个类群治疗后丰度显著上升, 包括梭杆菌门 (Fusobacteriota) 和艾肯菌属 (Eikenella)、口腔纤毛菌属 (Leptotrichia) 和消化链球菌属 (Peptostreptococcus) (图 2)。

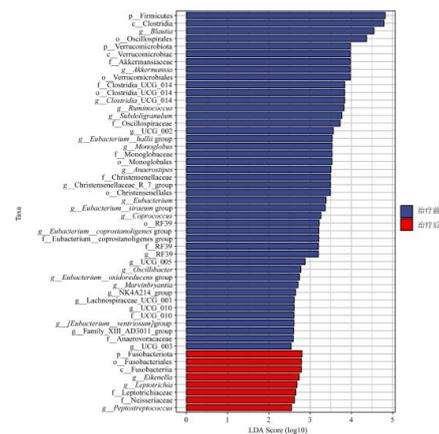


图 2 基于 LefSe 分析的肠道菌群差异比较

3 讨论

SAP 是最常见的 CHD 类型, 严重影响了国人的身体健康和生活质量。研究表明, 中医药治疗 SAP 可以改善临床症状, 且具有不良反应少的优点, 但也存在可重复性差等缺点。因此亟需探究相关的机制, 制定相关标准, 以进一步提高中医对 SAP 的治疗效果。本研究结果显示, 肌昔注射液治疗后患者尿酸显著降低, 这对于预防高尿酸血症、痛风、内分泌代谢性疾病, 甚至高血压、心脑血管疾病等也具有重要作用 [7]。此外, 有研究发现, 非 CHD 患者血液中 HDL-C 的含量显著高于 CHD 患者, 而免疫球蛋白尤其是 IgE 水平与冠状动脉粥样硬化严重程度呈显著正相关 [8]。结果显示, 经治疗后患者血液中的 HDL-C 含量有所回升且免疫球蛋白水平下降。这表明, 肌昔注射液对受试患者的治疗确实具有积极作用。

既往研究表明, 肠道菌群与 CHD 的发生发展密切相关 [4,9]。因此, 对于 CHD 的治疗也应进一步关注肠道菌群, 以便对疗效进行全面评估。本研究结果显示, 肠道菌群多样性降低且肠道菌群的组成发生明显变化, 预示着治疗过程确实对肠道菌群起到了一定的调节作用。例如, 粘蛋白降解菌阿克曼氏菌属和瘤胃球菌属的丰度显著下降, 表明它们对人体的潜在危害可能有所降低。研究表明, 这两种菌丰度的增加可能使其从对人体有益的一面转为有害, 包括增加病原体易感性、发展自发性结肠炎、过敏原敏感性增加等 [10]。此外, 本研究中梭杆菌门丰度的增加在降低尿酸方面可能起到了积极作用。研究发现, 该类群菌可在厌氧条件下利用尿酸等嘌呤作为碳源和能源, 从而维持人体的嘌呤稳态 [11]。另一方面, 也要对潜在的危险提高警惕。例如, 治疗后菌群中丰度显著增加的艾肯菌属 (Eikenella)、纤毛菌属 (Leptotrichia) 和消化链球菌属 (Peptostreptococcus) 等。虽然这些菌都是人体粘膜和/或肠道菌群的正常菌群, 但当机体免疫力下降及粘膜表面破损时, 艾肯菌和消化链球菌则会进入周围组织引起感染。此外, 经黏液真杆菌属丰度显著下降也意味着人体

对缓解炎症性疾病和代谢疾病方面的能力有所减弱。

综上所述, 肌昔注射液能有效降低 CHD-SAP 患者血钙及尿酸水平, 调节肠道菌群, 进而可能对 CHD-SAP 起到一定防治作用。但受限于研究条件, 某些方面还未能进一步深入研究, 例如长时间使用肌昔注射液是否会进一步改善机体功能、血液指标以及肠道菌群。此外, 某些细菌的功能未能进一步验证, 其丰度变化对机体的有益或有害作用尚需结合正常人群的研究进一步探索。后期研究将进一步挖掘肠道菌群功能的改变及对人体的作用机制。

[参考文献]

- [1]《中国心血管健康与疾病报告》2023(冠心病部分内容)[J]. 心肺血管病杂志, 2024, 43(10):1015-1024.
- [2]中华中医药学会心血管病分会. 冠心病稳定型心绞痛中医诊疗指南[J]. 中医杂志, 2019, 60(21):1880-1890.
- [3]于瑞, 赵英强, 李鹏, 等. 1061例冠心病稳定型心绞痛患者二级预防现状及影响因素的横断面研究[J]. 中医杂志, 2024, 65(20):2126-2134.
- [4]ZHAO X, CHEN Y, LI L, et al. Effect of DLT-SML on chronic stable angina through ameliorating inflammation, correcting dyslipidemia, and regulating gut microbiota[J]. J Cardiovasc Pharm, 2021, 77(4):458-469.
- [5]CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, ROSEN M J, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. Nat Method, 2016, 13(7):581-583.
- [6]SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic

biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biol, 2011, 12(6):R60.

[7]方宁远, 吕力为, 吕晓希, 等. 中国高尿酸血症相关疾病诊疗多学科专家共识(2023年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2023, 43(6):461-480.

[8]梁冰. 血清免疫球蛋白与血脂和冠状动脉粥样硬化严重程度的相关性研究[D]. 天津医科大学临床医学, 2020.

[9]AN K, JIA Y, XIE B, et al. Alterations in the gut mycobiome with coronary artery disease severity[J]. eBioMedicine, 2024, 103:105137.

[10]SCHAUS S R, VASCONCELOS PEREIRA G, LUIS A S, et al. Ruminococcus torques is a keystone degrader of intestinal mucin glycoprotein, releasing oligosaccharides used by Bacteroides thetaiotaomicron[J]. mBio, 2024, 15(8):e00039-24.

[11]KASAHARA K, KERBY R L, ZHANG Q, et al. Gut bacterial metabolism contributes to host global purine homeostasis[J]. Cell Host Microbe, 2023, 31(6):1038-1053.

作者简介:

王怀平(1988-), 女, 汉族, 山东人, 主治医师, 硕士学位, 研究方向为冠心病稳定型心绞痛相关危险因素及干预研究。

基金项目:

2021-zyyq24 川黄口服液对冠心病稳定型心绞痛气虚血瘀证患者肠道菌群结构差异及免疫功能的调节作用分析。