



急性敌草快中毒患者的血浆代谢组学特征初探*

胡惠^{1,2,3}, 杜宇^{1,2,3△}

1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 急诊与重症医学科(成都 610041);
2. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 劳动卫生与环境卫生学系(成都 610041);
3. 四川大学华西-协和陈志潜卫生健康研究院 卫生应急管理研究中心(成都 610041)

【摘要】 目的 分析急性敌草快(diquat, DQ)中毒患者血浆代谢组学特征,探讨中毒的分子机制和潜在生物标志物。方法 收集7例12 h内急性DQ中毒的患者作为DQ中毒组,7例同时期患者直系健康家属为正常对照组。采用液相色谱-质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)的非靶向代谢组学技术对血浆样本进行检测,筛选和鉴定差异代谢物及代谢通路。结果 筛选和鉴定出104个代谢物($P<0.05$ 和VIP>1),与对照组相比,DQ中毒患者血浆中山梨醇、半乳糖醇等61个代谢物上调,肌-肌醇、 γ -谷氨酰半胱氨酸等43个代谢物下调。通路富集分析发现有半乳糖代谢、亚油酸代谢等11条代谢通路发生变化($P<0.05$)。结论 通过对DQ中毒患者血浆样本的代谢组学分析,发现DQ主要干扰了能量、氨基酸、脂质代谢,造成代谢紊乱,并发现若干与氧化应激、肝、肾、神经系统等器官损伤密切相关的潜在生物标志物。

【关键词】 敌草快 中毒 代谢组学 血浆

A Preliminary Study on the Plasma Metabolomic Profiles of Patients Suffering From Acute Diquat Poisoning Hui Hui^{1,2,3}, Du Yu^{1,2,3△}. 1. Department of Emergency and Critical Care Medicine, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Occupational and Environmental Health, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Health Emergency Management Research Center, West China-PUMC C.C. Chen Institute of Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: 456duyu@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the plasma metabolomic features of patients suffering from acute diquat (DQ) poisoning and to explore the molecular mechanism and potential biomarkers of DQ poisoning. **Methods** A total of 7 patients suffering from acute DQ poisoning were enrolled in the DQ poisoning group. The poisoning of these patients occurred within a 12-h window at the time of enrollment. Meanwhile, 7 healthy immediate family members of the patients were enrolled as the normal controls. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was used to perform non-targeted metabolomic profiling of the plasma samples and to screen and identify differential metabolites and metabolic pathways. **Results** A total of 104 metabolites were screened and identified ($P<0.05$ and the variable importance in the projection [VIP]>1). Compared with those of the control group, 61 metabolites, such as sorbitol and galactitol, were up-regulated, and 43 metabolites, such as myo-inositol and gamma-glutamylcysteine, were down-regulated in the DQ poisoning group. Pathway enrichment analysis revealed changes in 11 metabolic pathways, including those for galactose metabolism and linoleic acid metabolism ($P<0.05$). **Conclusion** Metabolomics analysis of plasma samples from DQ poisoning patients shows that DQ mainly interferes with the metabolism of energy, amino acids, and lipids, thus causing metabolic disorders. Some potential biomarkers closely associated with oxidative stress and organ damage of the liver, kidney, and nervous system have been identified.

【Key words】 Diquat Poisoning Metabolomics Plasma

敌草快(diquat, DQ),是与百草枯(paraquat, PQ)同属联吡啶类化合物的除草剂。由于PQ对人畜毒性大,致死率高,目前已被包括中国等20多个国家禁止或限制使用^[1]。DQ取而代之,被广泛应用于农业生产中,近年来急性DQ中毒的病例报告越来越多,成为继PQ之后又一主要危

险农药。但两者中毒后的临床表现和脏器损伤却存在较大不同: DQ中毒后肺损伤轻,不引起纤维化,肝肾损伤严重而持久,早期神经损伤相对常见。目前DQ的中毒机制多被认为是由氧化应激导致细胞功能障碍,但机体损伤后进一步的代谢产物特征及脏器功能损伤的分子机制并不清楚。

代谢组学是从系统水平研究机体受外源性因素影响后小分子代谢产物的变化规律,精确分析内源性小分子物质,如糖、脂代谢过程的中间产物或最终产物^[2],近

* 四川省科技厅科研课题基金(No. 23ZDYF1888)资助

△ 通信作者, E-mail: 456duyu@163.com

出版日期: 2023-11-20

年来主要应用于功能基因组学、疾病早期诊断、病因机制研究、药物毒理学等生命科学领域。与靶向代谢组学相比,非靶向代谢组学无偏向性地对所有小分子代谢物同时进行检测分析,以识别新的或更敏感的疾病生物标志物,并对疾病的分子机制进行初探^[3]。XIAO等^[4]曾应用基于气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)的代谢组学分析来揭示DQ对成年斑马鱼肝脏潜在的毒性机制;ZHANG等^[5]利用基于液相色谱-质谱(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)的非靶向代谢组学结合转录组学、蛋白质组学的多组学方法分析DQ中毒小鼠肾脏损伤早期阶段的分子变化;还有学者利用非靶向代谢组学技术研究硒对小鼠DQ中毒的缓解作用等^[6-7]。目前关于人急性DQ中毒的代谢组学相关的研究较少,本研究采用基于LC-MS的非靶向代谢组学技术,以急性DQ中毒患者血浆为样本,观察急性DQ中毒的代谢特征,进一步探索急性DQ中毒可能的潜在生物标志物、治疗靶点和分子机制。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集2021年7月-2021年12月四川大学华西第四医院急诊与重症医学科急性DQ中毒患者7例,为DQ中毒组;同时期患者直系健康家属7人,为正常对照组。本研究经四川大学华西第四医院医学伦理委员会批准(批号:HXSJ-EC-2021007),所有受试者在纳入研究前均由其患者及家属签署了知情同意书。DQ中毒组纳入标准:①符合2020年《急性百草枯中毒诊断与治疗专家共识》诊断标准明确诊断为急性DQ中毒的口服中毒者^[8];②年龄为14~75岁;③中毒发生在12 h内。排除标准:①混合其他农药或药物者;②合并严重心、肝、肾疾病;③以口服外的其他方式摄入DQ中毒者;④体质量<40 kg。

1.2 血浆样本处理

将全血样本在4℃条件下解冻,解冻后涡旋1 min,混匀;移取样本于2 mL离心管中;加入400 μL甲醇溶液(-20℃保存),涡旋1 min;12000 r/min 4℃离心10 min,取全部上清液转移至新的2 mL离心管中,浓缩干燥;加入150 μL 80%甲醇水配制的2-氯-L-苯丙氨酸(4 mg/L)溶液(4℃保存)复溶样品,取上清液过0.22 μm膜过滤,过滤液加入到检测瓶中,用于LC-MS检测。

1.3 色谱和质谱分析条件

1.3.1 色谱条件

Thermo Ultimate 3000(Thermo Fisher Scientific, USA)超高效液相系统,色谱柱ACQUITY UPLC® HSS

T3(2.1×150 mm, 1.8 μm)(Waters, Milford, MA, USA),流速0.25 mL/min,柱温40℃,进样量2 μL。正离子模式:流动相为0.1%甲酸乙腈(C)和0.1%甲酸水(D);负离子模式:流动相为乙腈(A)和5 mmol/L甲酸铵水(B),梯度洗脱。

1.3.2 质谱条件

Thermo Q Exactive质谱检测器(Thermo Fisher Scientific, USA),电喷雾离子源(ESI)。正离子喷雾电压3.50 kV,负离子喷雾电压-2.50 kV,鞘气30 arb,辅助气10 arb。毛细管温度325℃,以分辨率70000进行一级全扫描,一级离子扫描范围 m/z 81~1000,并采用HCD进行二级裂解,碰撞电压为30%,二级分辨率为17500,采集信号前10离子进行碎裂,同时采用动态排除去除无必要的MS/MS信息。

1.4 数据质量评价

利用质量控制(quality control, QC)样本进行质量控制, QC样本间差异小说明方法稳定性高数据质量好。进行质量保证(quality assurance, QA),潜在的特征峰在QC样本中的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)不能超过30%, RSD<30%的特征峰比例能达到65%左右,说明数据良好^[9]。

1.5 数据处理及统计学方法

采用R XCMS软件包进行峰检测、峰过滤、峰对齐处理,得到物质定量列表。采用公共数据库HMDB(<http://www.hmdb.ca>)、massbank(<http://www.massbank.jp/>)、LipidMaps(<http://www.lipidmaps.org>)、mzcloud(<https://www.mzcloud.org>)、KEGG(<https://www.kegg.jp/>)及自建物质库进行物质的鉴定。基于QC样本的LOESS信号校正方法实现数据校正,消除系统误差^[10]。数据质控中过滤掉QC样本中RSD>30%的物质。采用R软件包Ropls分别对样本数据进行主成分分析(principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)降维分析。根据Mann-Whitney U检验(Mann-Whitney U test)计算P值、OPLS-DA降维方法计算变量投影重要度(the variable importance in the projection, VIP)。当P<0.05和VIP>1时,认为代谢物差异有统计学意义。

采用MetaboAnalyst(www.metaboanalyst.ca)软件包对筛选差异代谢分子进行功能通路富集和拓扑学分析。富集得到的通路采用KEGG Mapper可视化工具进行差异代谢物与通路图的浏览。根据超几何检验计算P值,当P<0.05时,认为代谢物通路差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性DQ中毒患者的临床特点

本研究纳入了7例急性DQ中毒患者,均给予血液灌流3-2-1-1方案、激素及水化利尿等对症处理,随访1个月,根据职业性中毒性肝病和肾病诊断标准对肝肾损害程度进行诊断分级。7例患者均出现了中度至重度的肝脏和肾脏损害,5例出现中毒性脑病表现,无肺损伤表现,2例患者死亡。临床表现与服毒量相关,死亡的2例患者服毒量为20 g并出现了重度肝肾损害及脑病;服毒量低于10 g的2例患者症状最轻,肝肾损害为中度且无中毒性脑病表现。

2.2 总离子流图

总离子流图(total ion chromatogram, TIC)显示,正、负离子模式下DQ组和对照组样本出峰趋势趋于一致,检测结果可靠,代谢物基本相同(图1)。

2.3 数据质量评价

PCA得分图显示正负离子模式下QC样本密集分布,差异较小,方法有良好的稳定性和重复性,数据可靠(图2)。正负离子模式下的QC样本中RSD<30%的特征峰比例为85.8%和79.7%,超过65%,数据良好。

2.4 多元统计分析

对两组血浆代谢物进行PCA分析,正离子模式下两组样本无交叉重叠,具有明显的分离趋势;负离子模式下DQ组内样本较聚集,组间样本较分散,血浆代谢物存在差异。结果表明,DQ组与对照组的血清代谢物存在差异(图3)。应用OPLS-DA对两组样本进行对比,可最大程度查看组间差异。OPLS-DA得分图显示正离子模式和负离子模式下DQ组和对照组的分离均十分显著,表明DQ组血浆代谢物含量与对照组不同(图4)。

2.5 差异代谢物分析

根据 $P < 0.05$ 和VIP>1的标准,在正、负离子模式下分别筛选鉴定了39种和65种代谢物,涉及能量代谢、氨基酸代谢、脂代谢等共104个差异代谢物。与对照组相比,DQ中毒患者血浆中山梨醇、半乳糖醇等61个代谢物上调,肌-肌醇、 γ -谷氨酰半胱氨酸等43个代谢物下调(表1)。将代谢物在聚类热图中可视化,可观察到DQ组和对照组中代谢物的变化趋势(图5)。

2.6 差异代谢通路分析

在血浆样本差异代谢物中富集得到101条代谢通路,将代谢通路在气泡图中可视化(图6),气泡大小及颜色深

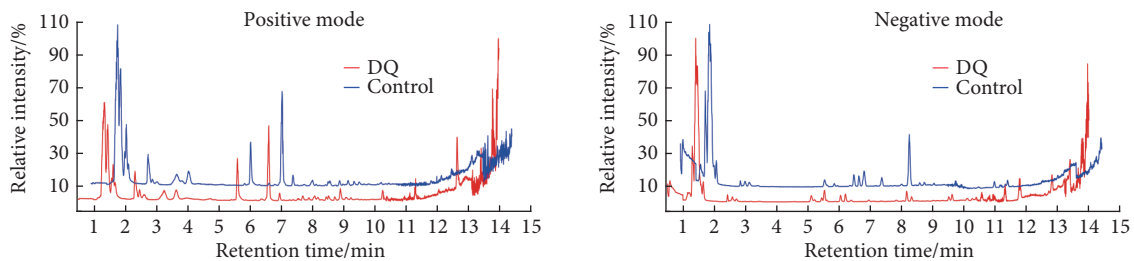


图1 总离子流图

Fig 1 Total ion chromatogram

Under the two modes the peak trends of the DQ and control groups tend to be consistent, showing the results are reliable.

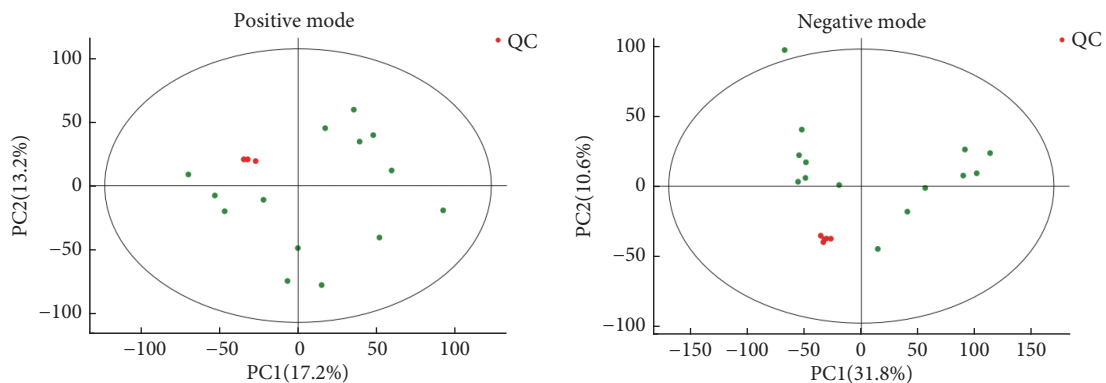


图2 QC样本PCA得分图

Fig 2 The Principal component analysis (PCA) of QC samples

Red dots represent QC samples and green dots represent the samples. The clustering of QC samples shows that the repeatability is good and that the results are reliable.

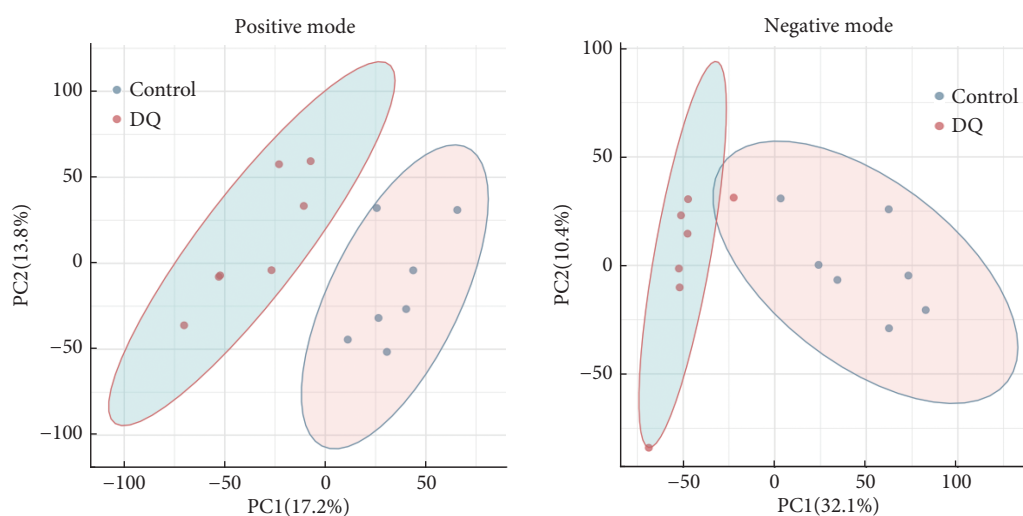


图 3 PCA得分图

Fig 3 Score plots of PCA model from the control (blue circle) and DQ groups (red circle)

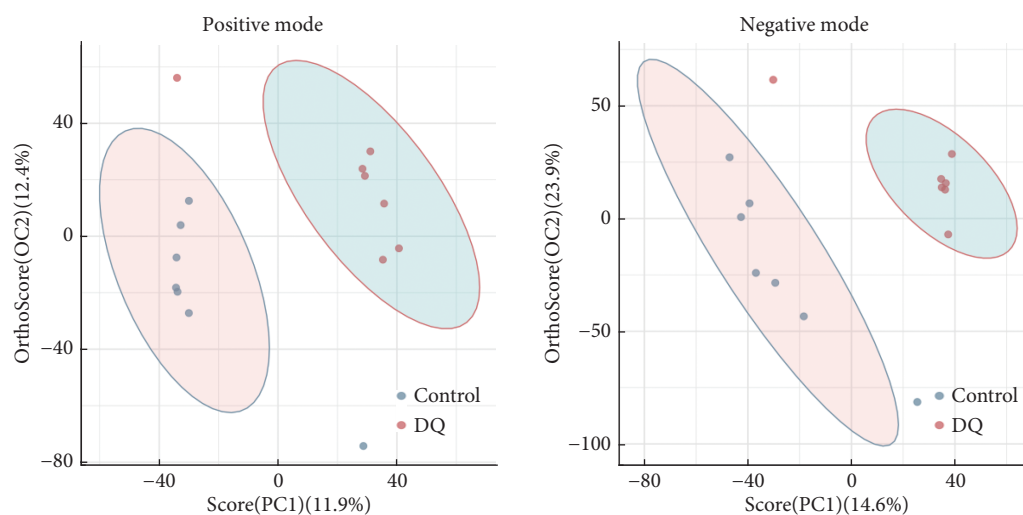


图 4 OPLS-DA得分图

Fig 4 Score plots of the OPLS-DA model from the control (blue circle) and DQ groups (red circle)

表 1 DQ中毒组和对照组的部分差异代谢物列表

Table 1 Some differential metabolites between the DQ poisoning group and the control group

| Number | Name | P | VIP | Mode | Trend | Pathway |
|--------|---------------------------------|--------|--------|----------|-------|------------------------------------|
| 1 | Succinic acid | 0.0006 | 1.6442 | Negative | ↓ | TCA cycle |
| 2 | Isocitric acid | 0.0041 | 1.7356 | Positive | ↑ | TCA cycle |
| 3 | Sorbitol | 0.0006 | 1.6113 | Negative | ↑ | Galactose metabolism |
| 4 | Galactitol | 0.0006 | 1.6193 | Negative | ↑ | Galactose metabolism |
| 5 | myo-Inositol | 0.0175 | 1.2033 | Negative | ↓ | Galactose metabolism |
| 6 | 2-Ketobutyric acid | 0.0006 | 1.6077 | Negative | ↑ | Cysteine and methionine metabolism |
| 7 | Phosphoserine | 0.0041 | 1.8321 | Positive | ↓ | Cysteine and methionine metabolism |
| 8 | DL-Homocystine | 0.0379 | 1.5788 | Positive | ↓ | Cysteine and methionine metabolism |
| 9 | L-Methionine S-oxide | 0.0379 | 1.7396 | Positive | ↑ | Cysteine and methionine metabolism |
| 10 | 3-Methylthiopropionic acid | 0.0006 | 1.5898 | Negative | ↑ | Cysteine and methionine metabolism |
| 11 | Spermidine | 0.0006 | 1.6778 | Negative | ↑ | Glutathione metabolism |
| 12 | gamma-Glutamylcysteine | 0.0111 | 1.2134 | Negative | ↓ | Glutathione metabolism |
| 13 | Pyroglutamic acid | 0.0379 | 1.1785 | Negative | ↑ | Glutathione metabolism |
| 14 | Palmitic acid | 0.0006 | 1.6442 | Negative | ↑ | Fatty acid biosynthesis |
| 15 | Linoleic acid | 0.0012 | 1.6043 | Negative | ↑ | Linoleic acid metabolism |
| 16 | 13S-hydroxyoctadecadienoic acid | 0.0379 | 1.1268 | Negative | ↑ | Linoleic acid metabolism |

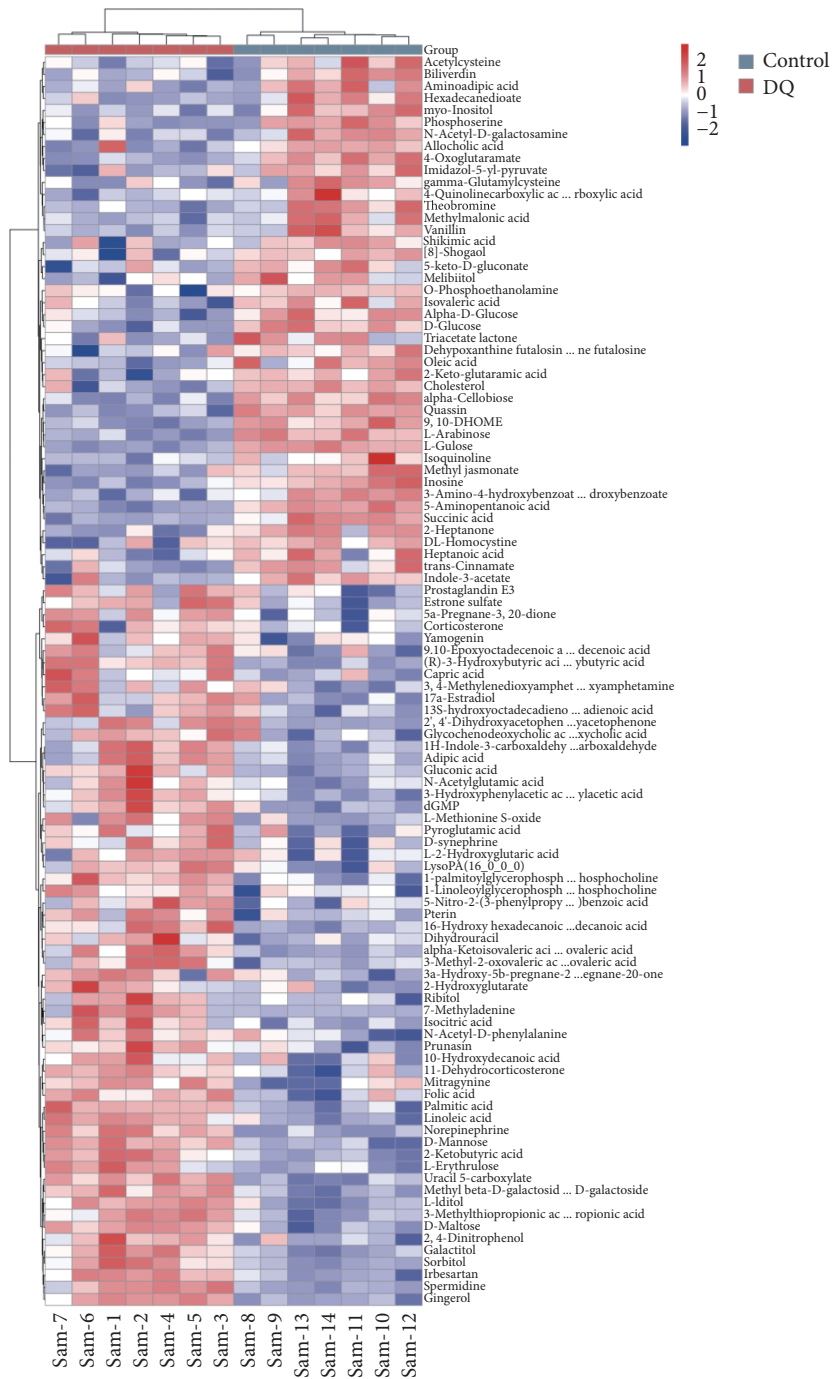


图 5 差异代谢物的层次聚类热图

Fig 5 Hierarchical clustering heatmap of the differential metabolites

浅可以表示不同代谢通路的P值和影响值(Impact)。根据 $P < 0.05$ 共筛选出10条代谢通路,包括半乳糖代谢、亚油酸代谢、ABC转运体、胆汁分泌、基底细胞癌、类固醇激素生物合成、胆固醇代谢、cAMP信号通路、半胱氨酸和蛋氨酸代谢和胰高血糖素信号通路(表2)。

3 讨论

DQ与PQ具有相似的化学结构、物理性质和作用方

式,虽然两者的临床表现依赖于中毒的剂量,但两者中毒后的临床表现和死因却存在很大不同。本研究中7例患者均出现了不同程度的肝脏和肾脏损害,5例出现中毒性脑病表现,无肺损伤表现。7例患者临床表现与服毒量相关,服毒量大的2例患者出现了重度肝肾损害及脑病并且死亡,而服毒量少的2例患者症状最轻,肝肾损害为中度且无中毒性脑病表现。本研究中病例的临床表现和既往报道一致。HANTSON等^[11-12]发现DQ中毒早期除了恶

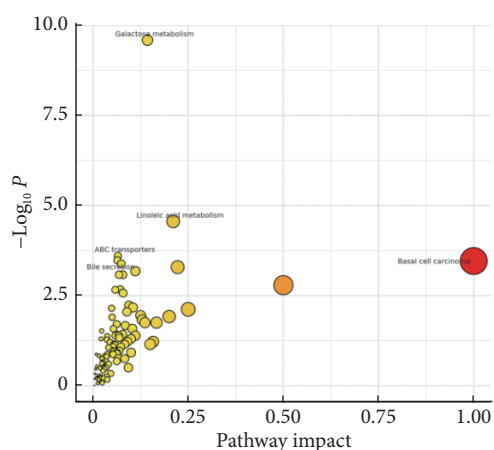


图 6 代谢通路影响因子气泡图

Fig 6 Bubble chart of the impact of metabolic pathways

心、呕吐和皮肤黏膜的刺激腐蚀症状外还有表现兴奋、烦躁不安、抽搐,甚至昏迷等神经精神症状,中后期出现不同程度的肝肾功能损害或功能衰竭。神经精神系统症状也在SAEED等^[13]的研究病例中出现,相关影像学检查提示颅内出血或脑梗死,而这些在百草枯中毒中表现不明显。国内外报道DQ中毒患者临床表现中,最大不同点是肺部损伤没有百草枯严重,并且没有发现进行性肺纤维化^[14-16]。本研究通过代谢组学技术首次分析了急性DQ中毒患者的代谢模式,DQ会导致血浆中多种代谢物和代谢通路的变化,涉及能量、氨基酸、脂质等代谢,以下对一些重点代谢物与通路展开讨论。

3.1 DQ中毒患者的能量代谢障碍

LC-MS分析的结果表明与能量代谢相关的代谢物发生了变化。DQ组中琥珀酸下调,异柠檬酸上调,二者是TCA循环的中间代谢产物。真核生物的TCA循环是在线

粒体内膜上进行,可提供大量能量,中间产物为其他物质的合成提供原料,也是糖、脂、蛋白质等代谢的枢纽。TCA循环异常,与认为DQ引起的氧化应激可抑制线粒体的正常生理功能的观点相符^[17],提示DQ中毒后,TCA循环受阻,底物消耗减少,进而影响机体的能量供应减少。

值得关注的是半乳糖代谢的差异,半乳糖代谢主要在肝脏中进行,主要代谢途径是Leloir途径,其最终结果是1-磷酸葡萄糖的产生,1-磷酸葡萄糖可代谢转化为6-磷酸葡萄糖^[18],参与磷酸戊糖途径,该途径能生成还原型辅酶Ⅱ(NADPH),NADPH可为脂肪酸、类固醇激素、氨基酸等物质的合成提供还原力,在DQ组中也观察到了各种脂肪酸及其衍生物和类固醇激素含量增加。DQ能消耗NADPH转化为DQ⁺,DQ⁺通过氧化还原循环过程不断产生ROS和RNS,致使氧化应激发生^[8]。本研究还发现半乳糖醇和山梨醇上调,这可能是由于Leloir途径的替代途径通过醛糖还原酶将半乳糖转化为半乳糖醇^[18]。醛糖还原酶以NADPH为辅酶,还可将葡萄糖转化为山梨醇,两种糖醇蓄积可引起细胞渗透性损伤。半乳糖醇还能被激活后的半乳糖脱氢酶氧化,生成氧化产物过氧化氢和醛,这一过程产生的ROS会攻击细胞,引起神经元细胞损伤,使动物出现学习记忆障碍和机体衰老等特征^[19]。关于山梨醇,目前许多研究表明糖尿病并发症如白内障、糖尿病神经病、糖尿病肾病等与其在体内蓄积有关。本研究还观察到肌-肌醇下调,山梨醇增加可能导致细胞内肌醇的消耗,这些变化会降低钠钾三磷酸腺苷酶活性,并可能改变细胞内的氧化还原电位^[20]。肌醇及其衍生物有着调节葡萄糖代谢、细胞信号传导、基因转录、凋亡等生物学功能。研究表明肌醇缺乏通过PI3K/Akt信号通路诱导细胞

表 2 DQ中毒组和对照组的差异代谢通路分析结果

Table 2 Differential metabolic pathways between the DQ poisoning group and the control group

| Number | Pathway name | Hits/Total | P | Impact | Compound name |
|--------|------------------------------------|------------|--------|--------|--|
| 1 | Galactose metabolism | 8/46 | 0.0000 | 0.1429 | D-Glucose; myo-Inositol; D-Mannose; Alpha-D-Glucose; Sorbitol; N-Acetyl-D-galactosamine; Galactitol; Melibiitol |
| 2 | Linoleic acid metabolism | 4/28 | 0.0104 | 0.2105 | Linoleic acid; 13S-hydroxyoctadecadienoic acid; 9,10-Epoxyoctadecenoic acid; 9,10-DHOME |
| 3 | ABC transporters | 9/138 | 0.0273 | 0.0652 | D-Glucose; myo-Inositol; D-Mannose; D-Maltose; L-Arabinose; Inosine; Spermidine; Sorbitol; Methyl beta-D-galactoside |
| 4 | Bile secretion | 7/97 | 0.0308 | 0.0642 | D-Glucose; Cholesterol; Spermidine; Folic acid; Allocholic acid; Estrone sulfate; Glycochenodeoxycholic acid |
| 5 | Basal cell carcinoma | 1/1 | 0.0313 | 1 | Cholesterol |
| 6 | Steroid hormone biosynthesis | 7/99 | 0.0339 | 0.0744 | Cholesterol; Corticosterone; 17a-Estradiol; Estrone sulfate; 5a-Pregnane-3,20-dione; 3a-Hydroxy-5b-pregnane-20-one; 11-Dehydrocorticosterone |
| 7 | Cholesterol metabolism | 2/10 | 0.0371 | 0.2222 | Cholesterol; Glycochenodeoxycholic acid |
| 8 | cAMP signaling pathway | 3/25 | 0.0416 | 0.1111 | Succinic acid; Norepinephrine; (R)-3-Hydroxybutyric acid |
| 9 | Cysteine and methionine metabolism | 5/63 | 0.0457 | 0.0783 | 2-Ketobutyric acid; Phosphoserine; DL-Homocystine; L-Methionine S-oxide; 3-Methylthiopropionic acid |
| 10 | Glucagon signaling pathway | 3/26 | 0.0460 | 0.0682 | D-Glucose; Succinic acid; Isocitric acid |

周期和细胞凋亡的改变,PI3K/Akt信号通路障碍与神经退行性疾病发生和随后发展密切相关^[4]。肌-肌醇还是包括阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)在内的神经退行性疾病的可能治疗剂^[21]。DQ中毒后患者出现明显的能量代谢障碍,脑部是对能量供应障碍影响最敏感的器官,因此,早期DQ中毒严重患者表现有中毒性脑病症状。

3.2 DQ中毒患者的氨基酸代谢异常

研究观察到大量氨基酸及衍生物发生变化,其中,蛋氨酸亚砷、 γ -谷氨酰半胱氨酸等代谢物涉及到半胱氨酸和蛋氨酸代谢、谷胱甘肽代谢两条重要通路。氨基酸残基易被ROS氧化,而蛋氨酸残基对ROS极为敏感,与ROS结合转化为蛋氨酸亚砷清除ROS。结果显示蛋氨酸亚砷上调、蛋氨酸代谢紊乱,提示中毒者体内ROS水平增加。半胱氨酸残基也易被氧化^[22],半胱氨酸和谷氨酸在 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(GCS)的催化下合成 γ -谷氨酰半胱氨酸,谷胱甘肽合成酶催化 γ -谷氨酰半胱氨酸和甘氨酸合成谷胱甘肽(GSH)。GSH在抗氧化防御中发挥重要作用,缺乏可致氧化应激,氧化应激在衰老和包括AD、PD、肝病在内的许多疾病的发病机制中均发挥关键作用^[23]。 γ -谷氨酰半胱氨酸下调,提示GSH合成代谢减弱,机体无法应对DQ所致的氧化损伤。

3.3 DQ中毒患者的脂质代谢异常

研究观察到脂质代谢的明显变化,棕榈酸、亚油酸等脂肪酸及其衍生物含量增加。棕榈酸具有脂毒性,在对非酒精性脂肪性肝病的研究中,棕榈酸被发现可通过内质网应激、线粒体功能障碍、增加细胞内ROS含量致氧化应激,还能激活TLR4等信号通路促进炎症来造成细胞损伤^[24-25]。而在对早期AD代谢组学研究发现血浆中鞘磷脂含量降低,神经酰胺含量升高^[26]。临床上发现严重急性DQ中毒早期大多会出现轴突变性、桥脑髓鞘溶解等中毒性神经病变,推测与DQ中毒后明显的脂质代谢异常可能存在潜在的联系。

亚油酸从膜磷脂中释放时可以被酶促氧化代谢成多种参与细胞信号传导的衍生物^[27],能增强诱导型一氧化氮合酶表达和NO的产生,会导致被细胞因子激活的巨噬细胞和神经元的GCS抑制和GSH耗竭,所以亚油酸增加可能会加剧细胞中GSH的损失^[21]。在一些对药物性肝损伤和肾病的研究中也有发现亚油酸代谢出现异常^[28-29]。亚油酸还能被拉长和去饱和成其他生物活性 ω -6多不饱和脂肪酸,如花生四烯酸^[23]。花生四烯酸及其衍生物类花生酸是重要的炎症因子,与氧化应激关系密切^[30]。

综上,本研究通过对DQ中毒患者与健康人群的血浆样本的非靶向代谢组学检测,发现DQ和正常人代谢模式

有很大不同,DQ干扰了能量、氨基酸、脂质代谢,造成代谢紊乱,并发现若干与氧化应激、肝肾和神经等器官损伤相关的潜在生物标志物。这些潜在生物标志物有望对DQ中毒患者进行病情评估、制定治疗方案及预后评价提供依据。研究的局限性在于样本量较小,个体差异较大,且血浆代谢产物对反映DQ针对的靶器官毒性并不具备特异性,在之后,本课题组可能会进行动物实验研究DQ中毒引起的靶器官的代谢变化。

* * *

作者贡献声明 胡惠负责论文构思、数据审编、正式分析和初稿写作,杜宇负责论文构思、经费获取、调查研究、研究方法、研究项目管理、提供资源和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 岳琳娜,向平,宋粉云,等.生物检材中常见除草剂的分析方法及研究进展.法医学杂志,2021,37(2):248-255. doi: 10.12116/j.issn.1004-5619.2019.390902.
- [2] 余锋,林时辉,廖晓辉,等.代谢组学分析在重症医学领域的研究与应用进展.重庆医科大学学报,2018,43(7):877-882. doi: 10.13406/j.cnki.cyx.001670.
- [3] HERTZOG A, SELVANATHAN A, DEVANAPALLI B, *et al.* A narrative review of metabolomics in the era of "-omics": integration into clinical practice for inborn errors of metabolism. *Transl Pediatr*, 2022, 11(10):1704-1716. doi: 10.21037/tp-22-105.
- [4] XIAO Y, LIN X, ZHOU M, *et al.* Metabolomics analysis of the potential toxicological mechanisms of diquat dibromide herbicide in adult zebrafish (*Danio rerio*) liver. *Fish Physiol Biochem*, 2022, 48(4):1039-1055. doi: 10.1007/s10695-022-01101-4.
- [5] ZHANG H, ZHANG J, LI J, *et al.* Multi-Omics Analyses reveal the mechanisms of early stage kidney toxicity by diquat. *Toxics*, 2023, 11(2):184. doi: 10.3390/toxics11020184.
- [6] QIAO L, DOU X, SONG X, *et al.* Protective effect of biogenic selenium nanoparticles against diquat-induced acute toxicity via regulation of gut microbiota and its metabolites. *Food Chem Toxicol*, 2022, 170:113480. doi: 10.1016/j.fct.2022.113480.
- [7] DOAN N, LIU Y, XIONG X, *et al.* Organic selenium supplement partially alleviated diquat-induced oxidative insults and hepatic metabolic stress in nursery pigs. *Br J Nutr*, 2020, 124(1):23-33. doi: 10.1017/S0007114520000689.
- [8] 急性敌草快中毒诊断与治疗专家共识组.急性敌草快中毒诊断与治疗专家共识.中华急诊医学杂志,2020,29(10):1282-1289. doi: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2020.10.002.
- [9] WANT E J, MASSON P, MICHPOULOS F, *et al.* Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS. *Nat Protoc*, 2013, 8(1):17-32. doi: 10.1038/nprot.2012.135.

- [10] GAGNEBIN Y, TONOLI D, LESCUYER P, *et al.* Metabolomic analysis of urine samples by UHPLCQTOF-MS: Impact of normalization strategies. *Anal Chim Acta*, 2017, 955: 27–35. doi: 10.1016/j.aca.2016.12.029.
- [11] HANTSON P, WALLEMACQ P, MAHIEU P. A case of fatal diquat poisoning: toxicokinetic data and autopsy findings. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2000, 38(2): 149–152. doi: 10.1081/clt-100100930.
- [12] MAHIEU P, BONDUELLE Y, BERNARD A, *et al.* Acute diquat intoxication. Interest of its repeated determination in urine and the evaluation of renal proximal tubule integrity. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1984, 22(4): 363–369. doi: 10.3109/15563658408992567.
- [13] SAEED S A, WILKS M F, COUPE M. Acute diquat poisoning with intracerebral bleeding. *Postgrad Med J*, 2001, 77(907): 329–332. doi: 10.1136/pmj.77.907.329.
- [14] OKONEK S. Paraquat and diquat poisoning. Toxicologic findings and new therapeutic possibilities. *Med Welt*, 1976, 27(29): 1401–1405.
- [15] MANABE J, OGATA T. The toxic effect of diquat on the rat lung after intratracheal administration. *Toxicol Lett*, 1986, 30(1): 7–12. doi: 10.1016/0378-4274(86)90172-4.
- [16] MAGALHAES N, CARVALHO F, DINIS-OLIVEIRA R J. Human and experimental toxicology of diquat poisoning: toxicokinetics, mechanisms of toxicity, clinical features, and treatment. *Hum Exp Toxicol*, 2018, 37(11): 1131–1160. doi: 10.1177/0960327118765330.
- [17] CAO S, SHEN Z, WANG C, *et al.* Resveratrol improves intestinal barrier function, alleviates mitochondrial dysfunction and induces mitophagy in diquat challenged piglets¹. *Food Funct*, 2019, 10(1): 344–354. doi: 10.1039/c8fo02091d.
- [18] COELHO A I, BERRY G T, RUBIO-GOZALBO M E. Galactose metabolism and health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2015, 18(4): 422–427. doi: 10.1097/MCO.0000000000000189.
- [19] 于蕾, 贺晓丽. 阿尔茨海默病和轻度认知障碍常用实验动物模型的初步评价. *中国药理学通报*, 2020, 36(1): 1–5. doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2020.01.001.
- [20] SINGH M, KAPOOR A, BHATNAGAR A. Physiological and pathological roles of aldose reductase. *Metabolites*, 2021, 11(10): 655. doi: 10.3390/metabo11100655.
- [21] BIZZARRI M, FUSO A, DINICOLA S, *et al.* Pharmacodynamics and pharmacokinetics of inositol(s) in health and disease. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2016, 12(10): 1181–1196. doi: 10.1080/17425255.2016.1206887.
- [22] BIN P, HUANG R, ZHOU X. Oxidation resistance of the sulfur amino acids: methionine and cysteine. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 9584932. doi: 10.1155/2017/9584932.
- [23] WU G, FANG Y Z, YANG S, *et al.* Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*, 2004, 134(3): 489–492. doi: 10.1093/jn/134.3.489.
- [24] MARRA F, SVEGLIATI-BARONI G. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis. *J Hepatol*, 2018, 68(2): 280–295. doi: 10.1016/j.jhep.2017.11.014.
- [25] SVEGLIATI-BARONI G, PIERANTONELLI I, TORQUATO P, *et al.* Lipidomic biomarkers and mechanisms of lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radic Biol Med*, 2019, 144: 293–309. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.029.
- [26] HAN X, ROZEN S, BOYLE S H, *et al.* Metabolomics in early Alzheimer's disease: identification of altered plasma sphingolipidome using shotgun lipidomics. *PLoS One*, 2011, 6(7): e21643. doi: 10.1371/journal.pone.0021643.
- [27] WHELAN J, FRITSCHKE K. Linoleic acid. *Adv Nutr*, 2013, 4(3): 311–312. doi: 10.3945/an.113.003772.
- [28] SUN Y, CONG L, YANG S, *et al.* Moxifloxacin induced liver injury by causing *Lachnospiraceae* deficiency and interfering with butyric acid production through gut-liver axis. *Dis Markers*, 2022, 2022: 9302733. doi: 10.1155/2022/9302733.
- [29] CHEN D Q, CHEN H, CHEN L, *et al.* The link between phenotype and fatty acid metabolism in advanced chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32(7): 1154–1166. doi: 10.1093/ndt/gfw415.
- [30] 陶磊, 傅淑霞. 花生四烯酸与氧化应激的研究进展. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(11): 2233–2236. doi: 10.3969/j.issn.1000-4718.2011.11.039.
(2022-12-13 收稿, 2023-11-13 修回)

编辑 刘 华



开放获取 本文遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0 国际许可协议 (CC BY-NC 4.0), 允许第三方对本刊发表的论文自由共享 (即在任何媒介以任何形式复制、发行原文)、演绎 (即修改、转换或以原文为基础进行创作), 必须给出适当的署名, 提供指向本文许可协议的链接, 同时标明是否对原文作了修改; 不得将本文用于商业目的。

CC BY-NC 4.0 许可协议访问 <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

© 2023 《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有