

基于多组学的中风病痰热腑实证生物标志物研究进展*

贺晨菲^{1,2}, 程豪格^{1,2}, 冉春龙¹, 刘向哲¹

(1. 河南中医药大学第一附属医院 郑州 450000; 2. 河南中医药大学第一临床医学院 郑州 450046)

摘要: 中风病是严重威胁人类健康的一种疾病,中医学认为痰浊、实热是中风病的常见病理因素。中风病的早期诊断通常依赖于先进的影像学技术,如MRI、CT等,尚缺乏具有诊断意义生物标志物。因此,探索中风病痰热腑实证生物学标志物,将宏观辨证与微观辨证相结合,可为中医药防治中风病提供客观化数据支持,对于中风病的诊断、治疗和预后评估具有重要意义。文章从临床生化指标、微生物组学、基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学、网络药理学等方面进行梳理与总结,旨在发现中风病痰热腑实证相关特异性生物标志物,以期中风“证”的客观化研究提供分子依据,为证候实质的研究提供新的思路。

关键词: 中风病 痰热腑实证 生物标志物 研究进展

doi: 10.11842/wst.20231214002 中图分类号: R-058 文献标识码: A

中风病是严重威胁人类健康的一种疾病。随着人口老龄化和城市化进程加速,中风病危险因素流行趋势明显,我国的中风疾病负担出现了明显的增长态势^[1]。我国40岁及以上人群的中风人口标化患病率由2012年的1.89%上升至2019年的2.58%,而发达国家则呈现降低趋势^[2-3]。因此,早期诊断、早期治疗对减少中风病发生发展具有重大意义。中风病的早期诊断通常依赖于先进的影像学技术,如磁共振(MRI)和计算机断层扫描(CT)等,尚缺乏具有诊断意义的生物标志物。痰热腑实证是中风病一种常见的中医证候,探索痰热腑实证生物学标志物,将宏观辨证与微观辨证相结合,为中风“证”的客观化研究机制提供了分子依据,对于提高诊断准确性、指导用药、促进中西医结合以及发掘潜在的治疗靶点都具有重要的意义。

1 基于临床生化中风病痰热腑实证生物学标志物的研究

1.1 炎症相关指标

炎症是中风发生和发展的重要机制之一,炎症反应可促进血小板聚集和血栓形成,导致脑血管壁损伤和狭窄,从而增加中风的风险。中风发生后,炎症细胞迅速浸润到病灶周围,分泌多种炎症因子和细胞因子,引起脑水肿、细胞坏死和神经功能缺损。研究发现,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)在风痰火亢证和痰热腑实证中高表达,很可能成为二者与其他证型相鉴别的参考指标^[4]。基于方证相应理论,中风病痰热腑实证患者经星萎承气汤治疗后血浆内毒素脂多糖(LPS)、TNF- α 、IL-6水平显著改善,提示LPS、TNF- α 、IL-6可作为中风病痰热腑实证相关证型的一个重要客观辨证指

收稿日期:2023-12-14

修回日期:2024-01-29

* 河南省卫生健康委河南省中医药科学研究专项课题(2023ZXZX1077):中风病痰热腑实证诊断标准的建立,负责人:刘向哲;河南省科技厅科技攻关项目(242102311277):基于PI3K/Akt/HIF-1 α 信号通路探讨健脾补肾活血方治疗缺血性中风药效组分及作用机制,负责人:刘向哲;河南省中医药传承与创新人才工程(仲景工程)中医药学科领军人才项目(豫卫中医函[2021]8号),负责人:刘向哲。

** 通讯作者:刘向哲,主任医师,教授,医学博士,博士研究生导师,主要研究方向:中医药防治脑血管病研究。

标^[5]。刘迅等^[6]通过观察广东省急性缺血性中风(Acute ischemic stroke, AIS)不同证型患者的中性粒细胞总数(NEU)、淋巴细胞总数、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)等指标水平,发现广东省 AIS 患者血常规 NEU、NLR 的升高可能为 AIS 痰热证和风火证的辨证提供依据。

1.2 血同型半胱氨酸

高同型半胱氨酸血症是中风病的独立危险因素,与脑动脉粥样硬化、颈动脉斑块具有密切联系。在中医理论中,痰瘀邪热互相交杂,可以导致脉络受损^[7]。宋艳芳等^[8]研究证明,痰湿证候要素多与 C-反应蛋白(CRP)、血清同型半胱氨酸(HCY)相关,可为辨证诊治 AIS 提供可量化的参考指标。姜欢等^[9]研究发现急性脑梗死患者血清 HCY、CRP 及纤维蛋白原(FIB)水平均明显升高,且 HCY、FIB 升高与风痰阻络、痰热腑实证关系最为密切。但陈景利等^[10]的研究则认为 HCY 与 AIS 的中医证型无明显相关性。

1.3 脂质代谢相关指标

现代研究认为,血脂代谢异常是中风病痰热腑实证中痰的客观指标之一,也是心脑血管疾病的危险因素和预测因素^[11]。王月等^[12]对比痰热腑实证组和非痰热腑实证组中风病人脂代谢相关指标,发现脂蛋白(a)可能为痰热腑实证型的危险因素之一。张鹏等^[13]研究发现,总胆固醇(TCH)、载脂蛋白 A1(Apo-A1)、载脂蛋白 B(Apo-B)等指标在 AIS 不同中医证型中具有统计学差异,其中 TCH、Apo-B 与“血瘀”“痰浊”相关,为 AIS 的辨证提供客观化依据。

中风病痰热腑实证的临床生化指标研究已经揭示了其与炎症因子、HCY 以及血脂代谢异常等之间的关联。持续关注 and 检测生化指标的动态变化,可为中风病痰热腑实证的微观辨证提供客观参考,对于临床早期诊治及科研工作都具有重要意义。

2 基于微生物组学中中风病痰热腑实证生物学标志物的研究

微生物组学主要研究动植物体上共生或病理的微生物生态群体,包括细菌、古菌、原生动物、真菌和病毒等。肠道微生物由大约 10^{14} 个细胞组成,对于宿主的代谢、免疫和神经系统的发育至关重要^[14]。研究证明,人体大脑和胃肠之间存在双向调控环路,即脑-肠轴,肠道微生物可以通过产生神经递质和代谢产物

调节大脑的功能,其与中风病密切相关且与中医证候分型可能存在相关性^[15-16]。李梦君等^[17]通过肠菌与痰热腑实证证候的相关性分析得出粪栖杆菌属丰度与咳嗽、普雷沃菌属与便干便秘呈负相关,厚壁菌门与舌质、变形菌门和咳嗽、梭杆菌门与咳嗽、舌质之间均成正相关。证明了中风病痰热腑实证的舌质、便干便秘等证候特点与肠道菌群的相关性,为中风病痰热腑实证的客观研究开拓新思路。唐祎周等^[18]对痰热腑实证中风病患者进行“培元通腑法”针药结合治疗后发现,患者血管活性肽(Vasoactive intestinal polypeptide, VIP)水平和粪便中的大肠杆菌、肠球菌计数均显著下降,胃动素(Motilin, MTL)、胃泌素(Gastrin, GAS)、P 物质(Substance P, SP)水平和粪便中的双歧杆菌、乳酸杆菌计数均显著上升,这些差异表达进一步证实了中风病痰热腑实证与肠道微生态的相关性。

微生物代谢产物作为信号分子和代谢反应的底物在宿主体内发挥作用,其可以进一步触发中枢神经系统中的宿主衍生的细胞因子和炎症,调节并维持内环境稳态^[19]。苏萍^[20]发现缺血性中风(Ischemic stroke, IS)急性期风痰瘀阻证、痰热腑实证、气虚血瘀证、阴虚风动证 4 种证型患者的 VIP 表达升高,SP 表达降低,且痰热腑实证患者上述两指标表达水平最为异常。付璐等^[21]对 100 例卒中肝阳暴亢证、痰热腑实证、风痰阻络证、气虚血瘀证、阴虚风动证患者血浆血清 MTL、GAS 进行检测,发现痰热腑实证及肝阳暴亢证患者 MTL、GAS 含量显著升高且均高于其他证型,推测其与两种证型的形成相关。李玲^[22]证明,化痰通腑方能调节中风中经络恢复期风痰阻络证患者血清 5-羟色胺(5-Hydroxytryptamine, 5-HT)、 γ -氨基丁酸(γ -Aminobutyric acid, γ -GABA)、MTL、谷氨酸(Glutamic acid, Glu)、胆囊收缩素-8(Cholecystokinin Octapeptide, CCK-8)的水平,从而减轻脑神经损伤。其可能机制与调节神经递质及胃酸含量,减少兴奋性氨基酸毒性、增加氨基酸细胞保护性相关。因此,微生物代谢产物信号转导靶点的发现可以为中风病痰热腑实证标志物的研究提供新思路,具体见表 1。

3 基于基因组学中中风病痰热腑实证生物学标志物的研究

基因组学是通过基因测序和生物信息技术,研究生物个体的全基因组组成、结构和功能的学科。其与

表1 中风病痰热腑实证相关微生物标志物的研究

| 辨证分型 | 分析技术 | 微生物相关主要标志物 | | 参考指标 |
|-------------|-----------------|-------------------------------------|---------------------------------|------|
| | | 微生物代谢产物 | 微生物 | |
| 痰热腑实证 | 16S rDNA 高通量测序 | - | 粪栖杆菌属↓、普雷沃菌属↓、厚壁菌门↑、变形菌门↑、梭杆菌门↑ | [17] |
| 痰热腑实证 | 酶联免疫吸附法、平板活菌计数法 | VIP ↑、MTL ↓、GAS ↓、SP ↓ | 粪便中的双歧杆菌↓、乳酸杆菌↓、大肠杆菌↑、肠球菌↑ | [18] |
| 痰热腑实证 | 酶联免疫吸附法 | VIP ↑、SP ↓ | - | [20] |
| 痰热腑实证、肝阳暴亢证 | 酶联免疫吸附法 | MTL ↑、GAS ↑ | - | [21] |
| 风痰阻络证 | 酶联免疫吸附法 | 5-TH ↓、MTL ↓、γ-GABA ↓、Glu ↑、CCK-8 ↑ | - | [22] |

表2 中风病痰热腑实证相关基因标志物的研究

| 辨证分型 | 分析技术 | 主要基因标志物 | 文献 |
|------|-----------------------------|----------------------------------|------|
| 痰证 | MassARRAY 基因分型技术 | ABLIM3 基因 rs9512 | [24] |
| 痰证 | MassARRAY SNP 基因分型技术 | CRNKL1 基因 rs12624987 | [25] |
| 痰瘀证 | RT-PCR | EP300 基因 mRNA ↑ | [26] |
| 痰瘀证 | MassARRAY SNP 基因分型技术、RT-PCR | ELANE 基因 mRNA rs740021、rs3761007 | [27] |
| 火热证 | Biosystems®7500 Fast PCR | ZNF304 基因 rs7250521 | [28] |
| 痰湿 | PCR | ApoE ε4 等位基因、ApoE ε3/ε4 基因型 | [29] |
| 湿痰证 | ABI PRISM 3700 高通量测序技术 | NPY C-399 T 的 T 等位基因 ↓ | [30] |

转录组学、蛋白组学、代谢组学共同构成了系统生物学中组学研究的基础,医学基因组学的大数据构成了精准医学的基础工程^[23]。

古联等^[24-25]研究证明,ABLIM3 基因 rs9512 多态性、CRNKL1 基因 rs12624987 多态性可能影响 IS 痰证的发生风险。通过反转录-聚合酶链反应(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术检测痰瘀证型的 IS 和冠心病患者外周血 EP300 基因信使 RNA (Messenger RNA, mRNA) 表达水平,发现两组 EP300 基因 mRNA 表达均上调^[26];运用 PLINK 软件进行遗传关联分析 ELANE 基因痰瘀证及临床指标的相关性,发现 rs740021、rs3761007 多态性与 IS 痰瘀证患者部分血脂及凝血指标显著关联^[27],可为痰瘀证现代化研究提供分子生物学证据及研究思路。运用一般线性模型分析位点多态性与 IS 患者证候评分相关性,发现锌指蛋白 304 基因 rs7250521 多态性与 IS 患者的火热证评分显著相关,可能与 IS 火热证有一定的相关性^[28]。

李壮苗等^[29]检测中风病痰湿体质患者的血脂及载脂蛋白水平,并对 ApoE 基因进行测序分型,通过比对样本基因序列与目的基因序列发现痰湿体质易患中风可能与携带 ApoE ε4 等位基因、ApoE ε3/ε4 基因型有关,且 ApoE 基因多态性可能参与调控痰湿体质者

血脂浓度。

神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY) 广泛表达于中枢和外周神经系统, NPY 多态性与肥胖和/或血脂水平有关^[30]。Ko 等^[31]通过高通量测序技术对五种 SNP 基因分型(G-1484 A、C-147 T、C-399 T、A1201 G 和 C5325 T) 进行检测,发现 C-399T 的 T 等位基因与湿痰证型呈负相关,提示与肥胖相关的基因或遗传变异可能与中风病湿痰证相关,具体见表 2。

4 基于转录组学中风病痰热腑实证生物学标志物

转录组学的研究对象为特定细胞在某一功能状态下所能转录出来的所有核糖核酸(Ribonucleic acid, RNA)的总和,通过高通量芯片或测序技术可以从微观层面分析不同证型差异表达的转录组,解释证型在宏观层面呈现的表型差异,中风病痰热腑实证相关研究主要集中在环状 RNA (Circular RNA, circRNA)、长链非编码 RNA (Long noncoding RNA, lncRNA)、mRNA 和微小 RNA (Micro RNA, miRNA)^[32]。

黄静妍^[33]利用高通量微阵列芯片技术鉴别 AIS 痰瘀互结兼火热证和非火热证的 circRNA、lncRNA 和 mRNA 表达谱,发现二者之间有 105 个 circRNA、162 个 lncRNA 和 113 个 mRNA 表达有差异,hsa-circ-0105101、hsa-circ-0000620、lnc-FCGR3A-5: 1、LINC02397: 24、

表3 中风病痰热腑实证相关转录组学标志物的研究

| 辨证分型 | 分析技术 | 主要转录标志物 | | 文献 |
|----------|---|---|--------------------------------|------|
| | | 上调 | 下调 | |
| 痰瘀互结兼火热证 | 高通量微阵列芯片技术 | VNN1、hsa-circ-0000620、Inc-FCGR3A-5: 1、LINC02397:24、FCGR3B | ZNF876P、P2RY2、hsa-circ-0105101 | [33] |
| 阳类证 | Agilent Human miRNA 8 × 60K、Arraystar Human lncRNA 芯片微阵列、ViiA 7 Real-time PCR | lncRNA RP11-647P12.1、RP11-677M14.2 | - | [34] |
| 痰证 | 高通量转录组测序技术、qPCR、RT-PCR | FAM83G、NCAPG2 | KLRC2 | [35] |

FCGR3B、VNN1、ZNF876P、P2RY2可作为痰瘀互结兼火热证候选分子。

刘文琛等^[34]使用lncRNA、mRNA及miRNA芯片微阵列检测出急性缺血性中风阳类证、阴类证患者血清中lncRNA和mRNA存在表达差异,并挑选差异表达的分子进一步进行实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)验证,发现上调的反义lncRNA RP11-647P12.1和RP11-677M14.2表达水平参与阳类证形成过程,可作为潜在证候生物标志物。

苏丞^[35]采用高通量转录组测序技术筛选AIS痰证患者miRNA和mRNA表达谱,运用qPCR方法测定筛选出部分差异基因在不同证候的差异表达量,证明FAM83G、NCAPG2、miR-1287-5p有可能作为鉴别AIS痰证患者和非中风对照组的潜在候选标志物,CAMP、NCAPG2、miR-584-5p、miR-96-5p有可能作为鉴别AIS痰证患者与非痰证的候选标志物。最后构建急性缺血性中风痰证动物模型,通过RT-PCR验证,发现NCAPG2、FAM83G、KLRC2有望作为AIS痰证的潜在生物标志物,具体见表3。

5 基于蛋白组学中中风病痰热腑实证生物学标志物

蛋白质组学是通过质谱分析等技术,对给定细胞、组织或生物体进行的大规模的蛋白质水平研究。中医证候可看作是体内蛋白质的宏观表现形式,反映机体即时功能状态,通过对证型的蛋白质组学研究可以发掘潜在生物标志物,为中医证候的客观化研究提供新的思路^[36-37]。

脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是神经再生的标志物,在刺激神经干细胞分化中发挥重要作用^[38]。胡跃强等^[39]用原位杂交法和免疫组化法检测经清热化痰汤(由水牛角、丹参、地龙、赤芍、郁金、石菖蒲、川芎、酒大黄、天竺黄、生牡蛎共10味中药组成)灌胃后脑缺血小鼠BDNF及其蛋白的表达变化,证明了清热化痰汤可以通过上调BDNF

mRNA和蛋白的表达,减轻神经细胞凋亡,为探索痰热腑实证蛋白组学标志物提供了依据。

冯丽娜等^[40]通过液相色谱-质谱定量蛋白质组学研究抵当汤(大黄、桃仁、水蛭、虻虫)灌胃后脑出血大鼠脑组织蛋白表达,发现有23种蛋白表达上调,13种蛋白表达显著下调,并对这36种差异表达的靶蛋白进行平行反应监测验证,证明了抵当汤可能通过下调S100a8、S100a9及上调Col1a1、Col1a2对急性出血性中风大鼠起到脑保护作用机制。

刘涛等^[41]对大黄提取液灌胃治疗后IS及出血性中风大鼠脑组织行定量蛋白质组学分析,发现大黄调节的急性中风疾病相关差异表达蛋白(DEPs)有21个,即为大黄治疗急性中风的物质基础。随后对DEPs进行生物信息学分析及蛋白免疫印迹验证,证实了GTP结合蛋白REM2,酪氨酸3-单加氧酶,Neft和神经调制蛋白表达差异,且与能量代谢、离子稳态、突触相关蛋白的调节等密切相关。

6 基于代谢组学中中风病痰热腑实证生物学标志物

代谢组学是通过高通量、高灵敏度的仪器,对特定生物样品中的所有小分子代谢物(相对分子质量<1000 Da的代谢物)进行定性和定量分析,并结合多元统计学对数据进行分析和处理,以获得生物体生理、病理或毒理变化的信息^[42]。代谢组学通过分析不同证型的差异代谢物和代谢途径,揭示中医证型内涵,为中医客观化和精准化辨证提供依据^[43]。

荣立洋等^[44]运用核磁共振代谢组学方法处理IS痰湿证患者血清,发现IS痰湿证与脂类代谢、氨基酸代谢、能量代谢密切相关,涉及1-甲基组氨酸、丙酮、甲醇、蛋氨酸、极低密度脂蛋白、α-葡萄糖等28种差异代谢产物,为继续探究中风病痰湿证生物学基础及发现新药作用靶点提供新思路。

Huang等^[45]用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)和16s rDNA测序方法发现血浆代谢谱分布在急性缺血

表4 中风病痰热腑实证相关代谢组学标志物的研究

| 辨证分型 | 分析技术 | 主要代谢标志物 | | 文献 |
|------|------------------|--|--|------|
| | | 上调 | 下调 | |
| 痰湿证 | 核磁共振非靶向代谢组学 | 1-甲基组氨酸、醋酸、丙酮、柠檬酸、肌酸、乙醇胺、甲酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、异丁酸、异亮氨酸、乳酸、低密度脂蛋白、亮氨酸、脂质、赖氨酸、甲醇、蛋氨酸、肌醇、N-乙酰糖蛋白、苯丙氨酸、酪氨酸、缬氨酸、极低密度脂蛋白、 α -葡萄糖、 β -葡萄糖 | 丙氨酸 | [44] |
| 风湿热证 | LC-MS/MS 非靶向代谢组学 | 次黄嘌呤、鸟嘌呤、L-乳酸、L-谷氨酸、L-焦谷氨酸、反式肉桂酸、4-吡哆酸、(-)-前列腺素 e2、5-氧化-d-脯氨酸 | 肌苷、3-苯丙酸、4-孕烷-17 α ,20 β -二醇-3-酮、癸酸、辛酸、四氢脱氧皮质酮、9-氧-10(E),12(E)-十八碳二烯酸 | [45] |

性中风湿热证患者和健康对照之间存在显著差异。急性缺血性中风湿热证患者有16种代谢物水平变化,包括次黄嘌呤、鸟嘌呤、L-乳酸、L-谷氨酸、L-焦谷氨酸、反式肉桂酸、4-吡哆酸等,主要与氨基酸代谢、脂质代谢和核苷酸代谢等17种不同的代谢途径有关,揭示了相关代谢组学在AIS湿热证发病机制中的作用,为中风病辨证提供新的线索,具体见表4。

7 基于网络药理学中风病痰热腑实证生物学标志物

网络药理学可以分析药物在网络中与节点或网络模块的关系,有助于发现与特定疾病或药物反应相关的生物标志物,利用高通量筛选和网络分析等技术,对这些生物标志物进行验证,确定其在疾病诊断、预后判断或药物反应预测中的实际应用价值。

Wang等^[46]从中医药整合药理学研究平台(TCMIP v2.0)及中医药百科全书(ETCM)数据库中发现中风病痰热腑实证的相关基因集,包括CAVI、AVP、JAK2等82个基因,涉及免疫炎症、神经系统、凋亡和自噬等4个功能模块。并通过网络构建和拓扑特征值计算、核心网络靶标通路富集、多维网络可视化等系列研究,发现了星萎承气汤治疗中风痰热腑实证的22个关键成分和对应的与炎症免疫通路相关的AKT1、ADCY1、APP、ACTB等27个核心靶点。

三化汤首见于《素问病机气宜保命集·中风论第十》,由大黄、枳实、厚朴、羌活组成,具有祛风泻热、通腑导滞之效,常用于中风病痰热腑实证的临床治疗。基于方证相应理论,Zhang等^[47]通过GeneCards和OMIM数据库中确定了78个与缺血性卒中和三化汤相关的靶点,PPI网络构建显示靶基因INS、Akt1、IL6、MAPK3、CASP3、VEGFA、MAPK8、PTGS2、EGF和JUN可能是网络中的核心靶标,细胞实验验证了三化汤可能通过调节PI3K、Akt、CREB1、TNF- α 和IL-6等信号

通路发挥抗缺血性脑卒中的作用。安宫牛黄丸由牛黄、麝香等成分组成,具有清热、解毒和镇静的作用,可有效治疗中风、神昏等疾病。Zhou等^[48]通过网络药理分析与实验验证发现与流体剪切应力、动脉粥样硬化、TNF信号通路等相关的IL-6、JUN、MMP9、IL-1 β 、VEGFA为安宫牛黄丸的主要候选靶点,通过调节炎症和焦亡的通路减轻脑神经元损伤,为中风病痰热腑实证标志物的研究提供了更多的线索。

8 讨论

中风病及其并发症的防治给世界卫生保健系统带来了巨大挑战,痰热腑实证作为中风病的重要证型之一,具有病机复杂严重的特点,目前还缺乏可用于早期诊断、预测疾病进展的生物标志物,临床生化指标研究已经揭示了中风病痰热腑实证与炎症因子、HCY以及血脂代谢异常等之间的关联。然而,尚存在特异性差、关联性不强、研究结论不一致的问题,不能全面阐释中风病痰热腑实证的特征或预测其发生发展。而多组学考虑生物体的动态变化,具有时空性和整体性的优点,能克服单一指标或少数指标的局限性,与中医证候的整体观念及辨证论治相一致,能更合理的阐释中医“证”的内涵,为中医的现代化研究提供有力的客观化数据支持。

从研究现状来看,针对中风病痰热腑实证的多组学相关研究仍然较少,缺乏多中心、大样本的实验,其中蛋白质组学的相关研究最少,主要集中在以动物实验为基础的方剂研究,只能通过以方测证的方式得到间接的对证型的推论;基因组学已经为痰证、痰瘀及痰湿证等证候研究提供了新的视角和见解,但由于痰热腑实证病机复杂、病情多变的特点,该证型缺乏针对性的基因组学方面的研究;以上研究旨在探讨中风病痰热腑实证与生化指标、组学等

某一指标或某一方面的相关性,然而单一指标与痰热腑实证的相关性研究不足以阐明痰热腑实证的实质,还需要考虑多维指标群组与痰热腑实证的相关性。因此,笔者认为今后的研究可重点关注以下3点:①深入开展中风病痰热腑实证临床生化指标的相关性研究,为探索宏观与微观并重的中医辨证施治新发展模式奠定基础。②开展中风病痰热腑实证

生物标志物的不同组学的多中心、大样本的动物实验及临床试验研究,重点补充蛋白质组学及基因组学的研究,为中风病痰热腑实证提供更全面的分子生物学基础。③对多组学研究成果进行整合,构建复杂网络模型,多维度描述痰热腑实证的发生和发展过程,将有助于提高中医临床的诊疗水平,并为中医药现代化提供新的思路和方法。

参考文献

- 王亚楠,吴思缈,刘鸣.中国脑卒中15年变化趋势和特点.华西医学,2021,36(6):803-807.
- Wu S, Wu B, Liu M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management. *Lancet Neurol*, 2019, 18(4): 394-405.
- 王陇德,彭斌,张鸿祺,等.《中国脑卒中防治报告2020》概要.中国脑血管病杂志,2022,19(2):136-144.
- 许青.急性脑梗死中医辨证分型与炎症因子、MRI/ADC值的相关性研究.广州:广州中医药大学硕士学位论文,2018.
- 郭爽,于存娟,陈婷婷.星菱承气汤治疗中风病痰热腑实证疗效及对患者生物学指标和血浆内毒素脂多糖的影响.陕西中医,2022,43(5):592-595.
- 刘迅,潘思敏,王宏蔚,等.广东省急性脑梗死中医证型与血常规检验指标的关系探讨.广州中医药大学学报,2021,38(3):437-441.
- 张鸥,刘洋,蒙航娟,等.血浆同型半胱氨酸水平与脑卒中关系研究进展.中国公共卫生,2021,37(12):1840-1844.
- 宋艳芳,刘向哲,冉春龙,等.缺血性中风急性期证候要素演变规律及其与客观指标的相关性研究.北京中医药大学学报,2021,44(10):947-952.
- 姜欢,程海荣.急性脑梗死患者中医辨证分型与血清Hcy、CRP、凝血功能指标的相关性研究.四川中医,2021,39(3):74-77.
- 陈景利,梁文倩,何明丰,等.急性脑梗死中医证型与NT-proBNP、UA、Hcy、Fib的相关性分析.中国中医急症,2020,29(4):624-626.
- 迟显苏,梁晓,魏竞竞,等.基于血浊理论从痰、瘀、毒论治缺血性脑卒中.陕西中医,2023,44(7):917-921.
- 王月,陈沛,江澜,等.急性缺血性中风病痰热腑实证与同型半胱氨酸、脂蛋白a、甘油三酯、白介素-6的相关性研究.环球中医药,2022,15(3):522-525.
- 张鹏,温雪,徐佳,等.检验指标对急性脑梗死中医证型鉴别的作用研究.北京中医药,2020,39(12):1307-1310.
- Honaripisheh P, Bryan RM, McCullough LD. Aging microbiota-gut-brain axis in stroke risk and outcome. *Circ Res*, 2022, 130(8):1112-1144.
- 李琪,孙悦,丁成华,等.基于肠道菌群探讨中医辨证论治的生物学基础.时珍国医国药,2022,33(4):940-943.
- 苏萍,祝美珍,孙诗杰,等.基于“脑肠轴”理论探讨脑肠肽、肠道菌群与缺血性中风的联络机制.西部中医药,2023,36(9):110-114.
- 李梦君,刘向哲,冉春龙,等.中风星菱通腑胶囊对急性缺血性中风痰热腑实证患者肠道菌群的影响及肠道菌群与痰热腑实证的相关性探讨.中药药理与临床,2023,39(9):70-75.
- 唐祎周,许文婷,关莹,等.“培元通腑法”针药结合治疗痰热腑实证型卒中的疗效观察及对脑肠肽、肠道菌群的影响.中华中医药学刊,2023,41(2):144-148.
- Krautkramer K A, Fan J, Bäckhed F. Gut microbial metabolites as multi-Kingdom intermediates. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(2):77-94.
- 苏萍.缺血性中风急性期中医证型与脑肠肽VIP、SP水平的相关性研究.南宁:广西中医药大学硕士学位论文,2021.
- 付璐,刘毅,苏志霞,等.卒中急性期并发胃肠功能紊乱中医证型与脑肠肽胃动素、胃泌素的相关性研究.中国中医急症,2022,31(12):2128-2131.
- 李玲.化痰通络方对中风中经络恢复期风痰阻络证患者血清脑肠肽水平的影响.沈阳:辽宁中医药大学硕士学位论文,2023.
- 许四虎,李敬宇,潘荣,等.医学基因组学大数据与数据库的发展现状及趋势.中国研究型医院,2023,10(2):65-68.
- 古联,陈杏梅,赵心怡,等.ABLIM3基因rs9512多态性与缺血性脑卒中痰证发生风险显著相关.中华中医药学刊,2022,40(2):1-5.
- 古联,杨怡冰,苏莉,等.CRNKL1基因rs12624987多态性与缺血性中风痰证及其凝血指标显著关联.中华中医药学刊,2023,41(9):1-5.
- 古联,黎同顺,李敏华,等.EP300基因rs20551多态性与缺血性脑卒中痰瘀证和冠心病痰瘀证及其凝血功能的关联研究.中华老年心脑血管病杂志,2019,21(7):720-724.
- 古联,陈卓,周文君,等.中性粒细胞弹性蛋白酶遗传多态性与缺血性中风痰瘀证及临床风险指标的相关分析.中华中医药学刊,2021,39(10):11-15.
- 梁琳梅.锌指蛋白304(ZNF₃04)基因多态性与缺血性中风中医证候及其临床指标的关联研究.南宁:广西中医药大学硕士学位论文,2021.
- 李壮苗,黄赛娥,戴晓凤,等.中风病痰湿体质患者载脂蛋白E基因多态性分布特点研究.中医杂志,2017,58(15):1299-1303.
- Wu Y, He H, Cheng Z, et al. The role of neuropeptide Y and peptide YY in the development of obesity via gut-brain axis. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20(7):750-758.
- Ko M M, Kang B K, Lim J H, et al. Genetic association of NPY gene polymorphisms with dampness-phlegm pattern in Korean stroke patients. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012:109796.
- Montaner J, Ramiro L, Simats A, et al. Multilevel omics for the

- discovery of biomarkers and therapeutic targets for stroke. *Nat Rev Neurol*, 2020, 16:247–264.
- 33 黄静妍. 急性缺血性脑卒中痰瘀互结兼火热证 circRNA、lncRNA 和 mRNA 表达谱研究. 广州: 广州中医药大学博士学位论文, 2021.
- 34 刘文琛, 李国铭, 何春华, 等. 急性缺血性中风阴阳类证的血清转录组学特征分析. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(15):122–130.
- 35 苏丞. 急性缺血性中风痰证患者的转录组学研究. 广州: 广州中医药大学博士学位论文, 2022.
- 36 Hochrainer K, Yang W. Stroke proteomics: from discovery to diagnostic and therapeutic applications. *Circ Res*, 2022, 130(8):1145–1166.
- 37 Zhang Z, Wu S, Stenoien D L, *et al.* High-throughput proteomics. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)*, 2014, 7:427–454.
- 38 Langhnoja J, Buch L, Pillai P. Potential role of NGF, BDNF, and their receptors in oligodendrocytes differentiation from neural stem cell: an *in vitro* study. *Cell Biol Int*, 2021, 45(2):432–446.
- 39 胡跃强, 唐农, 刘泰, 等. 清热化痰方对脑缺血再灌注大鼠 BDNF mRNA 及其蛋白表达的影响. *中华中医药杂志*, 2012, 27(1):162–164.
- 40 冯丽娜. 基于定量蛋白质组学及靶向蛋白质组学探究抵当汤对急性出血性中风大鼠脑保护作用机制研究. 长春: 长春中医药大学博士学位论文, 2022.
- 41 刘涛, 王杨, 崔寒尽, 等. 基于蛋白质组学大黄异病同治急性中风大鼠脑物质的基础及相关机制. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(19):160–168.
- 42 Johnson C H, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(7):451–459.
- 43 崔芙蓉, 杨佳颖, 王志刚, 等. 代谢组学在中医药领域的应用与展望. *中草药*, 2022, 53(14):4512–4526.
- 44 荣立洋, 李毓秋. 基于代谢组学分析缺血性中风痰湿证生物标志物特点研究. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(2):195–200.
- 45 Huang X, Cao Y, Zhang L, *et al.* Characteristic metabolic and microbial profiles in acute ischemic stroke patients with phlegm-heat pattern. *J Tradit Chin Med Sci*, 2023, 10(3):247–256.
- 46 Wang P, Wang S, Chen H, *et al.* TCMIP v2.0 powers the identification of chemical constituents available in xinglou Chengqi Decoction and the exploration of pharmacological mechanisms acting on stroke complicated with tanre Fushi syndrome. *Front Pharmacol*, 2021, 12:598200.
- 47 Zhang W, Zhang L, Wang W J, *et al.* Network pharmacology and *in vitro* experimental verification to explore the mechanism of Sanhua Decoction in the treatment of ischaemic stroke. *Pharm Biol*, 2022, 60(1):119–130.
- 48 Zhou J, Jiang T, Wang J, *et al.* Multimodal investigation reveals the neuroprotective mechanism of Angong Niu Huang pill for intracerebral hemorrhage: Converging bioinformatics, network pharmacology, and experimental validation. *J Ethnopharmacol*, 2024, 319(pt 1):117045.

Research Progress on Biomarkers of Phlegm-Heat and Bowel-Excess Syndrome in Stroke Based on Multiomics

HE Chenfei^{1,2}, CHENG Haoge^{1,2}, RAN Chunlong¹, LIU Xiangzhe¹

(1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China; 2. Henan University of Chinese Medicine First Clinical Medical College, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Stroke is a disease that seriously threatens human health. Traditional Chinese medicine believes that turbid phlegm and sthenia fever are common pathological factors of stroke. The early diagnosis of stroke usually depends on advanced imaging techniques, such as MRI and CT, and there is still a lack of diagnostic biomarkers. Therefore, exploring the biological markers of Phlegm-Heat and Bowel-Excess Syndrome of stroke, combining macro-dialectics with micro-dialectics, can provide objective data support for the prevention and treatment of stroke by traditional Chinese medicine, which is of great significance for the diagnosis, treatment and prognosis evaluation of stroke. This paper reviews and summarizes the clinical biochemical indicators, microbiome, genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics and other aspects, aiming to find specific biomarkers related to Phlegm-Heat and Bowel-Excess Syndrome of stroke, so as to provide molecular basis for the objective research system of stroke "syndrome" and new ideas for the study of syndrome essence.

Keywords: Stroke, Phlegm-Heat and Bowel-Excess Syndrome, Biomarkers, Research progress

(责任编辑: 刘玥辰)