

基于核磁共振代谢组学对 2 型糖尿病合并脑梗死的研究

马红¹, 王雅静¹, 董继扬², 杨香玖¹, 黄延玲¹

(1. 厦门大学附属中山医院 福建医科大学厦门中山教学医院内分泌科, 福建省厦门市 361004;

2. 厦门大学电子科学系, 福建省厦门市 361005)

[关键词] 2 型糖尿病; 代谢组学; 氢谱核磁共振; 脑梗死

[摘要] 目的 应用氢谱核磁共振代谢组学(¹H-NMR)方法研究 2 型糖尿病(T2DM)合并脑梗死患者血清中小分子代谢物代谢轮廓的变化,探讨 2 型糖尿病合并脑梗死的可能发病机制。方法 选择 T2DM 合并脑梗死患者 19 例、单纯 T2DM 患者 25 例及健康对照者 29 例,利用¹H-NMR 方法检测血清的代谢轮廓,通过偏最小二乘判别分析方法,鉴别各组别间血清小分子代谢物的区别。结果 从血清偏最小二乘判别分析得分图中可以区分 3 组患者,与 T2DM 合并脑梗死有关的特征代谢物包括极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白、葡萄糖、乳酸、丙酮酸、3-羟基丁酸、N-乙酰糖蛋白、亮氨酸、缬氨酸、前列腺素 D₂、前列腺素 E₂、同型半胱氨酸、氧化三甲胺、甜菜碱等。结论 脂类代谢、糖代谢、氨基酸代谢的紊乱可能在 T2DM 合并脑梗死的发病中起到重要作用。炎症因子、同型半胱氨酸的增加,肠道菌群失调引起的氧化三甲胺、甜菜碱的浓度改变可能也与 T2DM 合并脑梗死的发生有一定关系。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

NMR-based Metabonomics Study of Patients with Cerebral Infarction Complication in Type 2 Diabetes Mellitus

MA Hong¹, WANG Ya-Jing¹, DONG Ji-Yang², YANG Xiang-Jiu¹, and HUANG Yan-Ling¹

(1. Department of Endocrinology, Zhongshan Hospital Xiamen University & Xiamen Zhongshan Teaching Hospital of Fujian Medical University, Xiamen, Fujian 361004, China; 2. Department of Electronic Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

[KEY WORDS] Type 2 Diabetes Mellitus; Metabolism; ¹H-Nuclear Magnetic Resonance; Cerebral Infarction

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the possible mechanism of cerebral infarction in type 2 diabetes mellitus (T2DM) through identifying the changes of metabolic products in serum by applying the method of ¹H-nuclear magnetic resonance (¹H-NMR). **Methods** Nineteen patients with cerebral infarction complication in T2DM, 25 T2DM patients without cerebral infarction and 29 healthy controls were included in our study. The micromolecular substances of each participant in serum were detected by ¹H-NMR. The metabolic profile of each participant was obtained. The partial least square discriminant analysis (PLS-DA) was used to examine the difference of metabolic profile among groups.

Results Based on the analysis of score plots of groups, the T2DM patients with cerebral infarction, T2DM patients without cerebral infarction and the group of healthy controls were clearly distinguished by applying PLS-DA. The characteristic metabolic products of patients with cerebral infarction complication in T2DM included very low density lipoprotein (VLDL), low density lipoprotein (LDL), glucose, 3-hydroxy butanoic acid, lactate, pyruvic acid, glycoprotein, leucine, valine, prostaglandin D₂, E₂, homocysteine, trimethylamine oxide (TMAO) and betaine. **Conclusions** The results of our study suggested that the metabolic disorders of lipids, carbohydrate and amino acid may play essential role in the development of T2DM with cerebral infarction. The elevated level of prostaglandin D₂, E₂ and homocysteine might play a role in the occurrence of cerebral infarction in T2DM. The change of TMAO and betaine which were caused by enteric dysbacteriosis, also might be related to the occurrence of cerebral infarction in type 2 diabetes mellitus.

[收稿日期] 2012-04-08

[作者简介] 通讯作者马红 博士 主任医师 副教授 研究方向为肥胖、糖尿病及其血管并发症 E-mail 为 hongma@xmu.edu.cn。王雅静 硕士 住院医师 研究方向为糖尿病大血管并发症 E-mail 为 wyj85@163.com。董继扬 博士 教授 研究方向为代谢组学与生物医学信号处理 E-mail 为 jydong@xmu.edu.cn。

2009年流行病学调查推算显示我国糖尿病发病率为9.7%,很可能超过印度成为全球糖尿病第一大国。由于糖尿病发病的隐匿性,糖尿病的未诊断率高达60%,提示中国的糖尿病患者大部分没有被发现和诊断^[1]。由于不能得到及时有效的治疗,超过1/3的新诊断患者已经存在各种并发症^[2],并严重威胁患者的健康甚至生命。流行病学研究表明糖尿病是脑卒中独立危险因素,糖尿病患者卒中危险性增加1.8~6倍^[3]。2型糖尿病脑血管并发症导致的致死率、致残率高,研究其发病机制有重要的意义。

代谢组学是通过考察生物体系受刺激或扰动后(如将某个特定的基因变异或环境变化后)其代谢产物的变化,或其随时间的变化来研究生物体系的代谢途径的一种技术^[4]。糖尿病作为一种代谢性疾病,利用代谢组学方法对糖尿病代谢产物进行分析,探索糖尿病及其并发症发生发展的机理,开拓了糖尿病研究的新视野。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2009年6月至2010年3月于厦门大学附属中山医院神经内科收集2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)合并脑梗死(cerebral infarction, CI)患者(T2DM合并脑梗死组)19名,平均年龄 63.68 ± 7.56 岁;并于内分泌科收集单纯2型糖尿病患者(单纯T2DM组)25名,平均年龄 63.92 ± 9.69 岁;选取健康体检中心健康人群(健康对照组)29名,平均年龄 42.86 ± 10.80 岁。其中T2DM合并脑梗死组、单纯T2DM组统称为实验组。均签署知情同意书。于清晨空腹一次性抽取3 mL的前臂静脉血,用台式超速离心机以3 000 r/s离心8 min,取血清0.6 mL,置于 -80°C 冰箱内,1个月内进行试验。

诊断标准:2型糖尿病诊断符合1999年WHO的诊断标准。脑梗死诊断标准按照全国第4届脑血管病学术会议制定的标准并经头颅CT或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查证实。

1.2 核磁共振谱图数据收集

进行核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)实验时,解冻血液样品至常温,将500 μL 血清与250 μL 磷酸盐缓冲液[0.2 mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, pH 7.4;重水(heavy water, D_2O 99.9%)]混合,以消除pH变化对化学位移的影响,加入适量的2,2-二甲基-2-硅烷-5-磺酸钠(2,2-dimethyl-2-sila-

pentane-5-sulfonate sodium salt, DSS)作为化学位移零点的定标。用5 mm样品管,在Varian NMR System 500 MHz谱仪上采集样品的一维 $^1\text{H-NMR}$ 谱。实验采用5 mm HCN三共振探头,温度300 K,谱宽5 kHz,信号累加256次,采用NOEPR-CPMG脉冲序列进行数据采集,其中预饱和模块用于抑制水峰信号,自旋回波模块用于抑制由蛋白和脂蛋白等物质产生的宽峰。

1.3 数据预处理与统计分析

采用MestRe-C 2.3软件及自编程序对谱图进行手工相位调节、基线校正和谱峰对齐。并将血液样本,去除残余水峰($\delta 4.7 \sim \delta 5.1$)后对 $\delta 0.7 \sim \delta 5.5$ 区间进行自适应积分。对积分数据归一化后构成数据矩阵,并利用偏最小二乘判别分析(partial least square discriminant analysis, PLS-DA)法对数据矩阵进行多元统计分析,产生得分图及负载图,其中得分图可以获得对样品分类的信息,负载图可以发现作为生物标记物的变量。从负载图中筛选出对分类贡献较大的谱峰段,进行代谢物的归属,再用 t 检验筛选出具有生物学统计意义的特征代谢物。

2 结果

2.1 各组血清典型 $^1\text{H-NMR}$ 谱图

各实验组及健康对照组的典型 $^1\text{H-NMR}$ 谱图中,可见T2DM合并脑梗死组血清 $^1\text{H-NMR}$ 谱图中葡萄糖、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、乳酸与N-乙酰糖蛋白谱峰与其他组对比升高明显;单纯T2DM组葡萄糖、VLDL、LDL、乳酸、N-乙酰糖蛋白谱峰较健康对照组也有升高(图1)。

2.2 各组血清 $^1\text{H-NMR}$ 谱图 PLS-DA 分析

分析各实验组之间的内源性代谢物差异,以找出T2DM合并脑梗死的特征代谢物,采用PLS-DA方法对血清样品数据矩阵进行统计分析,并得出对分类贡献较大的化学位移及可能的特征代谢物。

2.2.1 T2DM合并脑梗死组与健康对照组比较的特征代谢物变化 T2DM合并脑梗死组与健康对照组血清PLS-DA得分图中,可见T2DM合并脑梗死组与健康对照组得到了明显的区分(图2)。T2DM合并脑梗死组样本点的分布较为分散,考虑该组患者年龄较大,合并症较多,代谢紊乱较为严重;而健康对照组相对个体差异较小,样本点的分布

相对集中。从负载图结合谱图我们可以得出 T2DM 合并脑梗死患者血清中最可能存在特征代谢物的化学位移为: 0.84、0.95、1.01、1.05、1.18、1.31、1.38、2.02、3.42、3.48、3.69、3.88、5.28。应用 *t* 检验分析 T2DM 合并脑梗死组和健康对照组中这些化学位

移相应的可能特征代谢物的变化,我们发现 T2DM 合并脑梗死组较健康对照组血清中葡萄糖、乳酸、3-羟基丁酸、丙酮酸、前列腺素 D₂、甜菜碱、N-乙酰糖蛋白等含量显著增高,VLDL、LDL、甘油三酯等脂类增高,而缬氨酸、亮氨酸降低(表 1)。

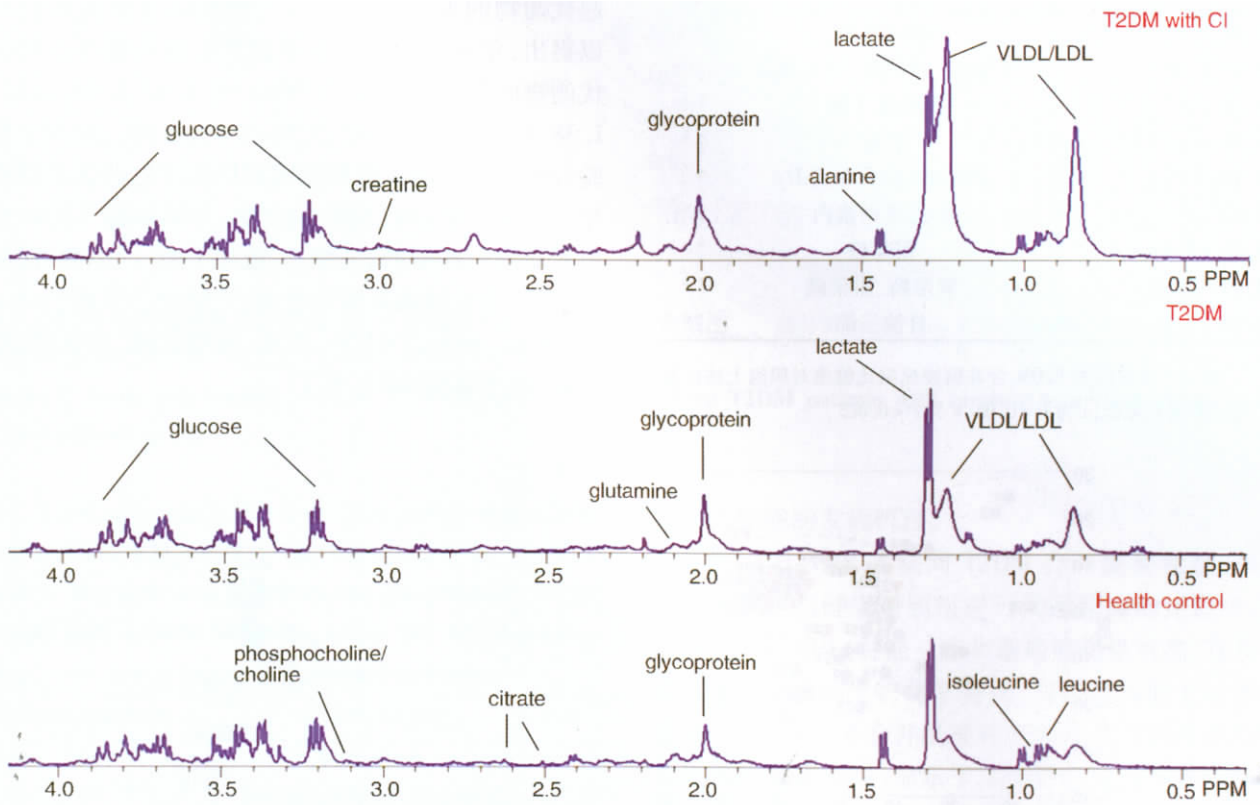


图 1. 各实验组与健康对照组血清的典型¹H-NMR 谱图

Figure 1. Typical ¹H-NMR spectra of serum from experimental groups and health control group

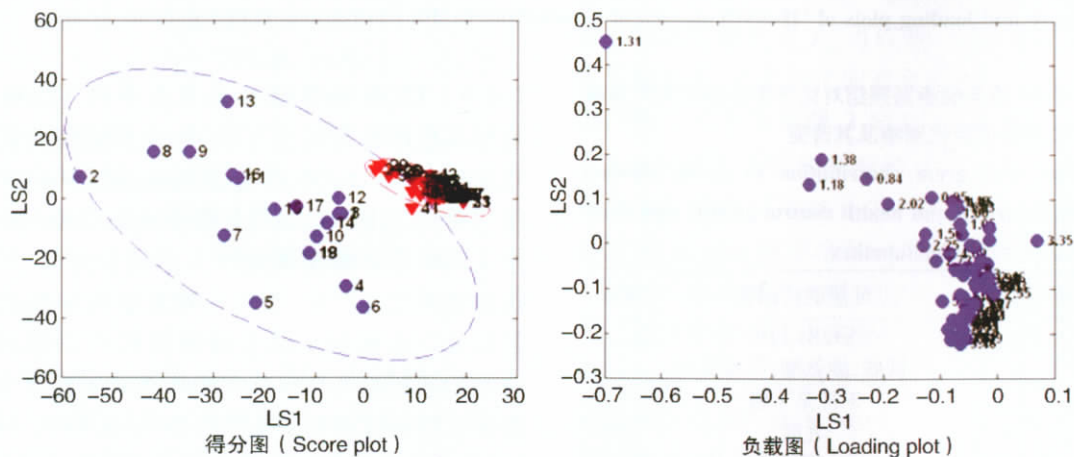


图 2. T2DM 合并脑梗死组与健康对照组血清样本 PLS-DA 得分图及负载图
得分图中红色▽为健康对照组,蓝色○为 T2DM 合并脑梗死组样本;负载图中蓝色○为氢谱图中的化学位移。

得分图中红色▽为健康对照组,蓝色○为 T2DM 合并脑梗死组样本;负载图中蓝色○为氢谱图中的化学位移。

Figure 2. Score and loading plots of ¹H-NMR spectra of serum from health control and T2DM patients with cerebral infarction groups

表 1. T2DM 合并脑梗死组与健康对照组对比分类贡献较大的谱峰段位移及其代表的可能代谢物及其改变

Table 1. Bins with great contribution to group distinct (T2DM patients with cerebral infarction group and health control group) and their corresponding potential metabolites

$^1\text{H-NMR}$ 谱峰位移 (δ)	可能的代谢物	变化
0.84、1.01	VLDL、LDL	↑ ^a
0.95、1.05	亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸	↓ ^a
1.18	3-羟基丁酸	↑ ^b
1.31	乳酸	↑ ^b
1.38	丙酮酸、前列腺素 D ₂	↑ ^b
2.02	N-乙酰糖蛋白	↑ ^b
3.42~3.49	葡萄糖	↑ ^a
3.69~3.88	葡萄糖、甜菜碱	↑ ^b
5.28	甘油三酯	↑ ^b

“↑”和“↓”分别代表 T2DM 合并脑梗死组比健康对照组上述代谢产物的升高和降低; a 为 $P < 0.05$ b 为 $P < 0.005$ 。

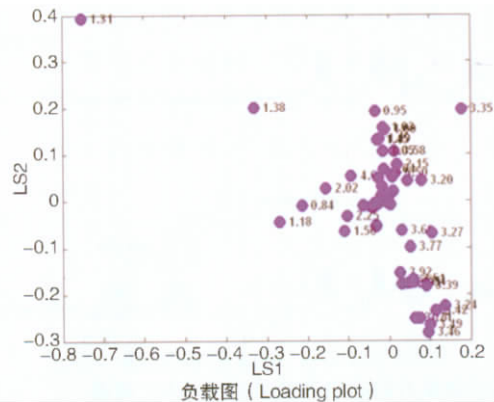
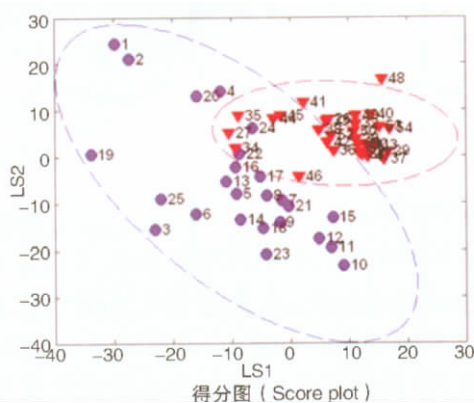


图 3. 单纯 T2DM 组与健康对照组血清 PLS-DA 得分图及负载图
得分图中红色 为健康对照组,蓝色○为单纯 T2DM 组样本;负载图中的蓝色○为氢谱图中的化学位移。

Figure 3. Score and loading plots of $^1\text{H-NMR}$ spectra of serum from health control and T2DM patients groups

表 2. 单纯 T2DM 组与健康对照组对比分类贡献较大的谱峰段位移及其代表的可能代谢物及其改变

Table 2. Bins with great contribution to group distinct (T2DM patients group and health control group) and their corresponding potential metabolites

$^1\text{H-NMR}$ 谱峰位移 (δ)	可能的代谢物	变化
0.84	VLDL、LDL	↑
0.95~1.03	亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸	↓ ^a
1.18	3-羟基丁酸	↑ ^a
1.31、4.09	乳酸	↑ ^a
1.38	丙酮酸、前列腺素 D ₂	↑ ^a
3.20	胆碱	↓ ^b
3.35	TMAO	↓ ^a
3.58	磷酸胆碱	↓ ^a
3.42~3.83	葡萄糖	↑ ^a

“↑”和“↓”分别代表单纯 T2DM 组比健康对照组上述代谢产物的升高和降低; a 为 $P < 0.05$ b 为 $P < 0.005$ 。

2.2.2 单纯 T2DM 组与健康对照组比较的特征代谢物变化 单纯 T2DM 组与健康对照组的 PLS-DA 得分图中,可见单纯 T2DM 组与健康对照组也可以得到明显的区分(图 3)。图中单纯 T2DM 组样本点较为分散,可能与 T2DM 患者口服各种药物引起代谢物的差异有关。从负载图结合谱图我们可以得出,单纯 T2DM 组患者血清中最可能存在特征代谢物的化学位移为: 0.84、0.95、1.03、1.18、1.31、1.38、3.20、3.35、3.42、3.58、3.83、4.09。应用 t 检验分析单纯 T2DM 组和健康对照组中这些化学位移相应的可能特征代谢物的变化,可见单纯 T2DM 组患者血清中葡萄糖、乳酸、3-羟基丁酸、丙酮酸、前列腺素 D₂ 等较健康对照组增高,而氧化三甲胺(trimethylamine oxide, TMAO)、胆碱、磷酸胆碱、亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸降低(表 2)。

2.2.3 T2DM 合并脑梗死组与单纯 T2DM 组比较的特征代谢物变化 T2DM 合并脑梗死组与单纯 T2DM 组的 PLS-DA 得分图可见, T2DM 合并脑梗死组与单纯 T2DM 组在得分图中区分明显(图 4)。图中 T2DM 合并脑梗死组样本点较为分散,可能与该组患者并发症严重,服用药物复杂所导致的代谢紊乱有关。从负载图结合谱图我们可以得出, T2DM 合并脑梗死患者与单纯 T2DM 患者对比血清中最可能存在特征代谢物的化学位移为: 0.84、0.95、1.01、1.05、1.31、1.38、2.02、2.15、3.22、3.24、3.83、5.28。应用 t 检验分析 T2DM 合并脑梗死组与单纯 T2DM 组中这些化学位移相应的可能特征代谢物的变化,我们发现 T2DM 合并脑梗死组患者较单纯 T2DM 组患者血清中乳酸、葡萄糖、丙酮酸、N-乙酰糖蛋白、VLDL、LDL、甘油三酯、TMAO、甜菜碱、前列

腺素 D₂、前列腺素 E₂ 及同型半胱氨酸等显著升高 (表 3)。

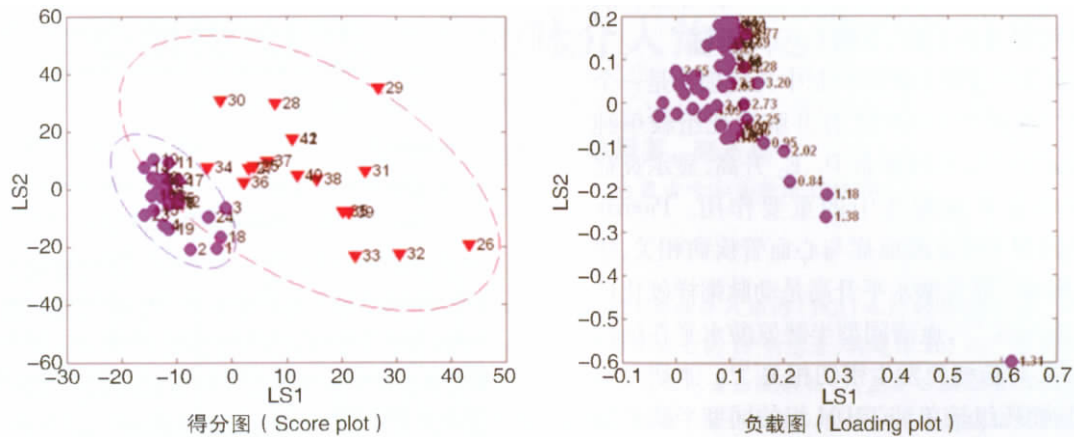


图 4. T2DM 合并脑梗死组与单纯 T2DM 组血清 PLS-DA 得分图及负载图 得分图中红色 为 T2DM 合并脑梗死组, 蓝色○为单纯 T2DM 组样本; 负载图中的蓝色○为氢谱图中的化学位移。

Figure 4. Score and loading plots of ¹H-NMR spectra of serum from T2DM patients with cerebral infarction group and T2DM patients group

表 3. T2DM 合并脑梗死组与单纯 T2DM 组对比分类贡献较大的谱峰段位移及其代表的可能代谢物及其改变

Table 3. Bins with great contribution to group distinct (T2DM patients with cerebral infarction group and T2DM patients group) and their corresponding potential metabolites

¹ H-NMR 谱峰位移(δ)	可能的代谢物	变化
0.84 ~ 1.01	VLDL、LDL	↑ ^a
0.95 ~ 1.05	缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸	↑ ^b
1.31	乳酸	↑ ^a
1.38	丙酮酸、前列腺素 D ₂	↑ ^a
2.02	N-乙酰糖蛋白	↑ ^a
2.15	同型半胱氨酸	↑ ^b
2.25	缬氨酸、前列腺素 E ₂	↑ ^b
3.24	甜菜碱、TMAO	↑ ^a
3.22 ~ 3.83	葡萄糖	↑ ^a
5.28	甘油三酯	↑ ^b

“↑”和“↓”分别代表 T2DM 合并脑梗死组比单纯 T2DM 组上述代谢产物的升高和降低; a 为 P < 0.05 b 为 P < 0.005。

3 讨论

代谢组学将代谢信息与病理生理过程中生物学事件关联起来, 从而了解机体生命活动的代谢过程。正如 Billy David 所说 “基因组学和蛋白质组学告诉你可能发生什么, 而代谢组学则告诉你已经发生了什么”^[5]。应用代谢组学对糖尿病及其并发症的研究取得了一定成果^[6]。应用代谢组学方法研究 T2DM 合并脑梗死患者的血清代谢轮廓的变化, 能一次性获取较完整的代谢信息, 从而可以从整体上

认识疾病的发病机理。

应用¹H-NMR 方法对 T2DM 合并脑梗死组、单纯 T2DM 组与健康对照组进行代谢轮廓的比较中, 发现 VLDL、LDL、甘油三酯和葡萄糖明显增高, 这符合 2 型糖尿病的生物化学特征, 与传统诊断方法的结果一致。T2DM 合并脑梗死组较单纯 T2DM 组脂类物质增高更明显, 显示了 T2DM 合并脑梗死患者脂代谢紊乱更加严重。Roussel 等^[7]进行的大型病例对照研究中, 对 2 型糖尿病心血管并发症进行预测, 采用两种方法, 其中 NMR 脂蛋白轮廓分析比全谱分析预测准确率更高。本研究显示 T2DM 合并脑梗死与血脂紊乱有关, 可以进一步进行 NMR 脂蛋白轮廓分析, 研究脂代谢紊乱在疾病中的作用。糖类代谢中可见葡萄糖、3-羟基丁酸、乳酸、丙酮酸水平在 T2DM 合并脑梗死组较单纯 T2DM 组升高, 而后者又较健康对照组升高。血清中丙酮酸及乳酸盐增加, 提示糖酵解增加。上述变化提示 T2DM 合并脑梗死患者糖类代谢紊乱与其发病相关。

氨基酸作为代谢网络中的重要代谢物, 与糖尿病存在相关性。韩晓菲等^[8]采用代谢组学方法测定血浆氨基酸代谢谱, 显示其与血糖值高低存在一定的相关性。缬氨酸与能量及肌肉代谢有关系, 缬氨酸缺乏可表现为大脑神经系统的症状。T2DM 合并脑梗死组及单纯 T2DM 组缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等支链氨基酸较健康对照组均降低, T2DM 合并脑梗死组支链氨基酸浓度比单纯 T2DM 组升高, 提示氨基酸代谢紊乱也可能参与了糖尿病合并脑梗

死的发生。动物实验研究^[9]发现糖尿病 db/db 小鼠模型较对照组血浆支链氨基酸含量增加。该结果与本研究结果不一致,有待进一步探讨。

糖尿病及其并发症的发病机制中炎症损伤是一个重要的因素。本研究中 T2DM 合并脑梗死组较单纯 T2DM 组、健康对照组前列腺素 D₂、E₂ 升高,显示炎症损伤在糖尿病合并脑梗死中的重要作用。Pietrzik 等^[10]发现高同型半胱氨酸血症与心血管疾病相关,研究发现血浆同型半胱氨酸水平升高是动脉粥样硬化性脑梗死的危险因素^[11],血清同型半胱氨酸水平在脑梗死急性期升高,与脑梗死发生密切相关^[12]。本研究中 T2DM 合并脑梗死组较单纯 T2DM 组的同型半胱氨酸有明显的增高,提示同型半胱氨酸升高可能在 T2DM 合并脑梗死的发病中起一定的作用。

胆碱和磷脂酰胆碱对细胞膜的完整性和脂类的代谢发挥着重要作用,单纯 T2DM 组血清胆碱、磷酸胆碱含量较健康对照组降低,可能与细胞膜完整性的破坏及脂类代谢的紊乱,从而影响血管内皮细胞完整及脂质沉积有关。胆碱可降解为三甲胺,它是一种胃肠道微生物产生的 TMAO 前体物质,能够进一步转化为 TMAO 而从尿中排出^[13,14]。据报道 TMAO 在血清中的降低可能与肠道细菌紊乱有关^[15]。新近研究^[16]发现肠道菌群失调导致胆碱、TMAO、甜菜碱 3 种饮食代谢产物紊乱与动脉粥样硬化及动脉粥样硬化性心脏病相关。本研究中单纯 T2DM 组血清 TMAO 浓度较健康对照组降低;甜菜碱在 T2DM 合并脑梗死组较单纯 T2DM 组、健康对照组升高。提示胃肠道微环境改变可能与 2 型糖尿病合并脑梗死的发生有一定关系。

综上所述,本研究利用¹H-NMR 方法研究 2 型糖尿病合并脑梗死患者小分子代谢物代谢轮廓的变化,发现脂类、葡萄糖等代谢物的变化与传统的生物化学检测结论相吻合,并且发现了一些新的特征代谢物或炎症因子,如缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、前列腺素 D₂、前列腺素 E₂、同型半胱氨酸、胆碱以及与肠道微环境改变有关的 TMAO、甜菜碱等。脂类、糖类及氨基酸的代谢紊乱、炎症因子以及肠道微环境改变引起的小分子代谢物的改变,可能与 2 型糖尿病合并脑梗死的发病有关。

[参考文献]

- [1] Wenying Y, Juming L, Jianping W, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1 090-101.
- [2] 胡善联, 刘国恩, 许樟荣, 等. 我国糖尿病流行病学和疾病经济负担研究现状 [J]. *中国卫生经济*, 2008, 27

(8): 5-8.

- [3] Kissela BM, Khoury J, Kleindorfer D, et al. Epidemiology of ischemic stroke in patients with diabetes: the greater Cincinnati/Northern Kentucky Stroke Study [J]. *Diabetes Care*, 2005, 28(2): 355-359.
- [4] Nicholson JK, Connelly J, Lindon JC, et al. Metabonomics: A platform for studying drug toxicity and gene function [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1(2): 153-161.
- [5] Gu D, Reynolds K, Duan X, et al. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in the Chinese adult population: Inter-national collaborative study of cardiovascular disease in Asia (Inter ASIA) [J]. *Diabetologia*, 2003, 46(9): 1 190-198.
- [6] 戴晓侠, 李学军, 董继扬, 等. 基于核磁共振的代谢组学在糖尿病中的应用 [J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2008, 28(4): 253-255.
- [7] Roussel R, Mentré F, Bouchemal N, et al. NMR-based prediction of cardiovascular risk in diabetes [J]. *Nat Med*, 2007, 13(4): 399-400.
- [8] 韩晓菲, 黄宇虹, 王龙星, 等. 血浆氨基酸代谢谱与糖尿病相关性研究 [J]. *分析化学*, 2010, 38(5): 697-701.
- [9] Connor SC, Hansen MK, Corner A, et al. Integration of metabolomics and transcriptomics data to aid biomarker discovery in type 2 diabetes [J]. *Mol Biosyst*, 2010, 6(5): 909-921.
- [10] Pietrzik K. Homocysteine as a cardiovascular marker and risk factor: Clinical Research in Cardiology [J], 2006, 95(6): 28-33.
- [11] 陈梅玲, 林小慧, 李清华, 等. 动脉粥样硬化性脑梗死患者血浆同型半胱氨酸水平及亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(9): 733-736.
- [12] 史哲, 吴永辉, 王拥军. 血清同型半胱氨酸水平与急性脑梗死严重程度及中国缺血性卒中亚型分型的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(9): 846-848.
- [13] Zeisel SH, Wishnok JS, Blusztajn JK, et al. Formation of methylamines from ingested choline and lecithin [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1983, 225(2): 320-324.
- [14] Smith JL, Wishnok JS, Deen WM. Metabolism and excretion of methylamines in rats [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1994, 125(2): 296-308.
- [15] Wei L, Liao P, Wu H, et al. Metabolic profiling studies on the toxicological effects of realgar in rats by ¹H-NMR spectroscopy [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 234(3): 314-325.
- [16] Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. *Nature*, 2011, 472(7341): 57-63.

(此文编辑 曾学清)