

本文引用:曹惠敏,刘冬书,雷宁,李延晖,张蓉. 基于代谢组学研究补肾解毒方对辐射损伤大鼠的防护作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(6): 852-858.

基于代谢组学研究补肾解毒方对辐射损伤大鼠的防护作用机制

曹惠敏^{1,2}, 刘冬书^{2,3}, 雷宁², 李延晖², 张蓉^{2*}

(1. 苏州大学药学院, 江苏 苏州 215021; 2. 火箭军特色医学中心, 北京 100088; 3. 锦州医科大学, 辽宁 锦州 121001)

【摘要】目的 基于代谢组学初步探究补肾解毒方对辐射损伤大鼠的防护作用机制。**方法** 将60只雄性Wistar大鼠随机分为假照射组、2 Gy辐射模型组、4 Gy辐射模型组、2 Gy补肾解毒方干预组和4 Gy补肾解毒方干预组, 每组12只, 假照射组和辐射模型组给予生理盐水灌胃, 补肾解毒方干预组给予补肾解毒方灌胃[组方生药等效剂量9.45 g/(kg·d)], 连续灌胃10 d。第11天, 除假照射组外, 其余组均进行相应剂量的 γ 射线全身辐射, 辐射后24 h和72 h分别收集各组大鼠血清, 高效液相色谱串联质谱靶向检测大鼠血清中氨基酸和酰基肉碱的含量。**结果** 与假照射组相比, 辐射大鼠血清代谢轮廓明显改变, 血清中赖氨酸含量明显升高($P<0.01$), 瓜氨酸、谷氨酸、组氨酸、脯氨酸含量明显降低($P<0.01$), 十四碳烯酰基肉碱和苏氨酸水平先降低后升高($P<0.01$)。与辐射模型组相比, 补肾解毒方可改善辐射大鼠血清代谢轮廓, 明显回调辐射大鼠血清中瓜氨酸、谷氨酸、组氨酸、赖氨酸、脯氨酸、苏氨酸、十四碳烯酰基肉碱含量($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 改善精氨酸生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、组氨酸代谢、D-谷氨酰胺和D-谷氨酸代谢等途径。**结论** 补肾解毒方可能通过回调辐射大鼠血清中部分氨基酸和酰基肉碱含量, 改善相关代谢通路, 发挥辐射防护作用。

【关键词】 补肾解毒方; 辐射; 代谢组学; 氨基酸; 酰基肉碱

【中图分类号】R285.5

【文献标志码】A

【文章编号】doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.06.007

Mechanism of Radiation Injury Protection of Rats of Bushen Jiedu Prescription Based on Metabonomics

CAO Huimin^{1,2}, LIU Dongshu^{2,3}, LEI Ning², LI Yanhui², ZHANG Rong^{2*}

(1. School of Pharmacy, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215021, China; 2. Rocket Army Characteristic Medical Center, Beijing 100088, China; 3. Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

【Abstract】Objective To explore the protective mechanism of Bushen Jiedu Prescription on radiation-damaged rats based on metabonomics. **Methods** 60 male Wistar rats were randomly divided into sham radiation group, 2 Gy radiation model group, 4 Gy radiation model group, 2 Gy Bushen Jiedu Prescription intervention group and 4 Gy Bushen Jiedu Prescription intervention group, with 12 rats in each group. Sham radiation group and radiation model groups were given normal saline by gavage, and the Bushen Jiedu Prescription intervention groups were given Bushen Jiedu Prescription [equivalent dose of crude drug was 9.45 g/(kg·d)] by gavage, for 10 consecutive days. On the 11th day, except for the sham irradiation group, the other groups received corresponding doses of γ -ray whole body radiation. After 24 hours and 72 hours after irradiation, the serum of rats of each group was collected. The content of amino acids and acylcarnitine in the blood of rats was detected by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Results** Compared with the sham irradiation group, the serum metabolic profile of irradiated rats changed significantly ($P<0.01$). The content of lysine in the serum was significantly increased ($P<0.01$), the content of citrulline, glutamic acid, histidine, proline was significantly reduced ($P<0.01$), and the levels of tetradecenoyl carnitine and threonine first decreased and

【收稿日期】2021-02-25

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(81673873)。

【作者简介】曹惠敏,女,在读硕士研究生,研究方向:中药抗辐射。

【通信作者】*张蓉,女,博士,主任医师,硕士研究生导师, E-mail: zhangrongyisheng@sina.com。

then increased ($P<0.01$). Compared with the radiation model group, Bushen Jiedu Prescription improved the serum metabolic profile of irradiated rats. The content of citrulline, glutamic acid, histidine, lysine, proline, threonine, and tetradecenoyl carnitine in the serum of irradiated rats was significantly returned ($P<0.01$ or $P<0.05$), and improved arginine biosynthesis, arginine and proline metabolism, histidine metabolism, D-glutamine and D-glutamate metabolism and other metabolic pathways. **Conclusion** Bushen Jiedu Prescription may improve the related metabolic pathways and exert radiation protection by adjusting the content of some amino acids and acylcarnitine in the serum of irradiated rats.

[**Keywords**] Bushen Jiedu Prescription; radiation; metabolomics; amino acids; acylcarnitine

近年来,辐射在便利人们生活的同时,也带来了意想不到的伤害,切尔诺贝利、福岛、达喀尔等核事故加重了人类对辐射的担忧^[1-2]。辐射引起基因、mRNA、蛋白质等代谢过程紊乱,损伤机体多个层面,造成体内代谢物的异常消耗或蓄积^[3]。代谢组学是检测环境改变后,生物体内源性小分子物质变化及变化规律的一门学科,通过高通量检测手段对生物体小分子物质进行定性和定量检测,动态监测并反映生物表型变化^[4-5]。

中医药是我国瑰宝,具有低毒高效、防治结合的特点,已广泛用于辐射损伤的研究^[6]。张蓉等^[7-9]通过对辐射病症进行分析,从五脏角度提出了从肾论治核辐射的思想,并在前期实验中发现补肾解毒方能够通过干预TLR4/NF- κ B信号转导途径,影响IL-6、IL-10和TGF- β 等下游炎症因子的表达,减轻胸腺、睾丸和子宫等主要脏器损伤,具有较好的辐射保护效果^[10-12]。

氨基酸不仅是合成蛋白质的基本单位,还能够转化为脂质、糖等物质,广泛参与机体生理生化活动^[13];酰基肉碱是机体脂肪酸转运必不可少的载体,同时也在支链氨基酸代谢中扮演重要的角色^[14]。体内氨基酸和酰基肉碱的水平与肾脏疾病和代谢疾病关系密切,对生物体内氨基酸和酰基肉碱含量进行分析,有助于疾病诊断新标志物的发现和机制研究^[15-16]。所以本实验拟从辐射损伤大鼠血清中氨基酸和酰基肉碱对补肾解毒方的辐射损伤防护作用机制进行研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物

由湖北省实验动物中心提供SPF级雄性Wistar大鼠60只,体质量180~220 g,实验动物生产许可证:SCXK(鄂)2020-0018。自由进水摄食,普通颗粒饲料喂养。

1.2 主要试剂

补肾解毒方方剂组成:熟地黄10 g,山茱萸12 g,山药10 g,泽泻10 g,茯苓10 g,牡丹皮10 g,冬虫夏草3 g,白花蛇舌草10 g,购于北京康仁堂药业有限公司并配置成中药颗粒;0.9%氯化钠注射液采购于火箭军特色医学中心;甲醇、乙腈、甲酸、纯水均采购于美国Fisher Scientific公司,有机溶剂均为分析纯;氨基酸靶向试剂盒(批号20200301#)和酰基肉碱靶向试剂盒(批号20200105#)购于北京质谱医学有限公司。

1.3 主要仪器

5810R型离心机(德国Eppendorf公司);Ultimate 3000 LC液相(美国戴安公司);API 3200 Q-TRAP MS质谱(美国AB SCIEX公司);Elekta Synergy直线加速器(瑞典Elekta公司)。

1.4 造模

SPF级雄性Wistar大鼠60只,随机分为假照射组、2 Gy辐射模型组(简称2 Gy辐射组)、4 Gy辐射模型组(简称4 Gy辐射组)、2 Gy补肾解毒方干预组(简称2 Gy中药组)和4 Gy补肾解毒方干预组(简称4 Gy中药组),每组12只。适应性喂养2 d后,每天上午8:00对大鼠进行灌胃,假照射组和辐射模型组给予9.45 g/(kg·d)的0.9%氯化钠溶液灌胃;补肾解毒方干预组给予9.45 g/(kg·d)补肾解毒方中药灌胃,连续灌胃10 d,第11天除假照射组外,其余各组分别接受2 Gy和4 Gy单次⁶⁰Co γ 射线全身照射(0.5 Gy/min),腹部向上,距离辐射源30 cm,假照射组放入相同环境但不给予辐射,辐射结束后继续放入代谢笼中喂养。大鼠补肾解毒方给药剂量参考《药理实验方法学》^[17],按照人体给药剂量换算大鼠给药剂量,组方生药等效剂量9.45 g/(kg·d)。

1.5 实验取材及样本制备

分别于辐射暴露后的24 h和72 h,将各组大鼠用乙醚麻醉,称重,眼眶采血,每个时间点每组取

样6只。于4℃条件下将血浆静置30 min,析出血清后,将其置于低温高速离心机,4℃、3 000 g离心15 min,收集上清,储存于-80℃冰箱,HPLC-MS/MS检测备用。

1.6 样品处理及指标检测

吸取所有大鼠血清样本各10 uL,混合均匀后得到质控样本。

样本中氨基酸前处理和检测方法:(1)取标准品混标、待测样本50 uL,加50 uL蛋白沉淀剂(含NVL),混匀后16 900 g冷冻离心4 min。取上清10 uL,加50 uL标记缓冲液混匀,瞬离。再加20 uL衍生液混匀、瞬离,55℃恒温衍生15 min。衍生后样本置冰箱冷却后混匀瞬离,取50 uL上机检测。(2)液相条件: C_{18} 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);柱温50℃;流速为1 mL/min;以水(含0.1%甲酸)为流动相A,乙腈(含0.1%甲酸)为流动相B,梯度洗脱程序为0~1 min 95% B,1~1.1 min 50% B,1.1~12 min 70% B,12~15 min 100% B,15~20 min 50% B;进样量为5 uL。(3)质谱条件:离子源正离子模式,多反应监测扫描。喷雾电压为+5 500 V,雾化气为55 psi,辅助气为60 psi,碰撞气为Medium,雾化温度为500℃,气帘气为20 psi,碰撞室射出电压为2 V,射入电压为10 V。

样本中酰基肉碱前处理和检测方法:(1)配置内标液:取1支NSK-A瓶和1支NSK-B瓶,分别依次加入0.5 mL乙腈和0.5 mL去离子水,摇匀溶解,静置5 min;将配好的NSK-A和NSK-B加入200 mL容量瓶中;甲醇反复5次清洗内标瓶,清洗液加入200 mL容量瓶中,甲醇定容到200 mL。(2)样品提取:每个样品取5 uL,添加100 uL内标液,用保护薄膜密封。将密封好的96孔微滤板的上层样品盘至于振荡器上10 min。置于60℃恒温下,氮气吹干。每孔分别添加60 uL衍生试剂,用保护薄膜密封。将密封好的下层样品盘至于恒温振荡器上,控制65℃、600 g衍生反应15 min。取下层样品盘,移除保护薄膜。置于60℃恒温下,氮气吹干。向已衍生化好的样品中各添加100 uL复溶液。覆膜密封。室温下200 g,振荡15 min后,移除覆膜,改换铝箔纸密封,待测。(3)液相条件:流动相为20%水(含0.02%甲酸)-80%乙腈(含0.02%甲酸),流速程序为(0.01~0.17) min×350 μL/min;(0.18~0.99) min×

20 μL/min;(1.00~1.20) min×350 μL/min;提取液为甲醇;复溶液为80%乙腈-20%水(含0.02%甲酸);衍生试剂为正丁醇:乙酰氯=9:1;进样量为20 μL。(4)质谱条件:离子源正离子模式,多反应监测扫描。喷雾电压为5 000 V,雾化气为30 psi,辅助气为30 psi,碰撞气为Medium,气帘气为20 psi,质核比扫描范围为210~510,酰基肉碱丁酯化子离子为85.10 Da。

1.7 数据分析

使用氨基酸标准品制作标准曲线,外标法定量样本中氨基酸;采用ChemoView提取酰基肉碱数据,内标法定量样本中酰基肉碱。利用Simca-P进行主成分分析法(PCA-X)、偏最小二乘法(PLS-DA)和正交偏最小二乘法(OPLS-DA)模型拟合,确认变量权重(VIP)>1和差异倍数(FC>1.2或FC<0.83)的代谢物;利用SPSS 20.0对各组代谢物进行t检验,P<0.05为差异有明显统计学意义;利用MetaboAnalyst对代谢物进行代谢通路分析。

2 结果

2.1 方法学结果

PCA-X模型显示质控样本在得分图中相对稳定聚集,表明系统稳定性良好,数据可靠。结果见图1。

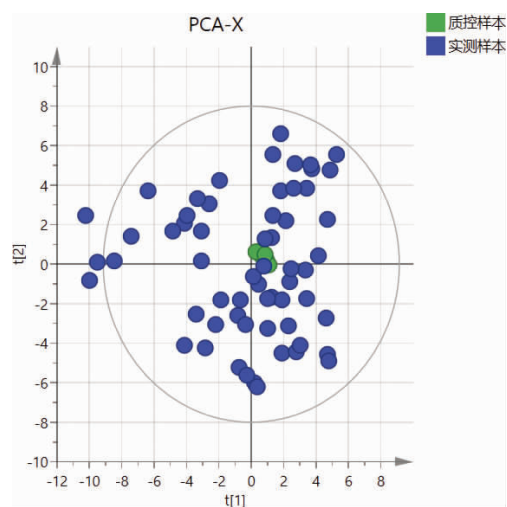


图1 大鼠血清质控样本与实测样本的PCA-X模型图

2.2 多元统计分析结果

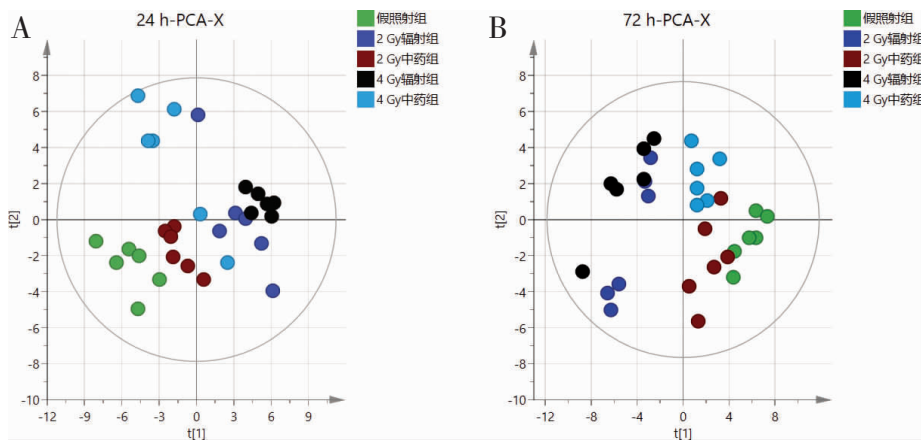
实验靶向测定大鼠血清中氨基酸和酰基肉碱,共99种代谢物。24 h PCA-X模型显示辐射组、中药组与假照射组基本分离,但4 Gy中药组与辐射组

有部分重叠;72 h PCA-X 模型显示辐射组、中药组与假照射组明显分离,无重叠。24 h PCA-X 模型的解释率(R^2X)为 0.652,模型的预测率(Q^2)为 0.372;72 h PCA-X 模型的解释率(R^2X)为 0.660,模型的预测率(Q^2)为 0.423。PCA-X 模型见图 2。

24 h-2 Gy-PLS-DA 模型显示在 95%置信区间内,假照射组、辐射组和中药组能够明显分离,各组样本较为集中,模型参数 $R^2X=0.315, R^2Y=0.906, Q^2=0.525$ 。200 次置换检验结果显示 PLS-DA 模型未出现过拟合,模型稳定可靠,模型参数 Intercept $R^2=0.554, Intercept Q^2=-0.197$ 。同理对其余时间点剂量的辐射大鼠样本进行 PLS-DA 模型拟合,24 h-4

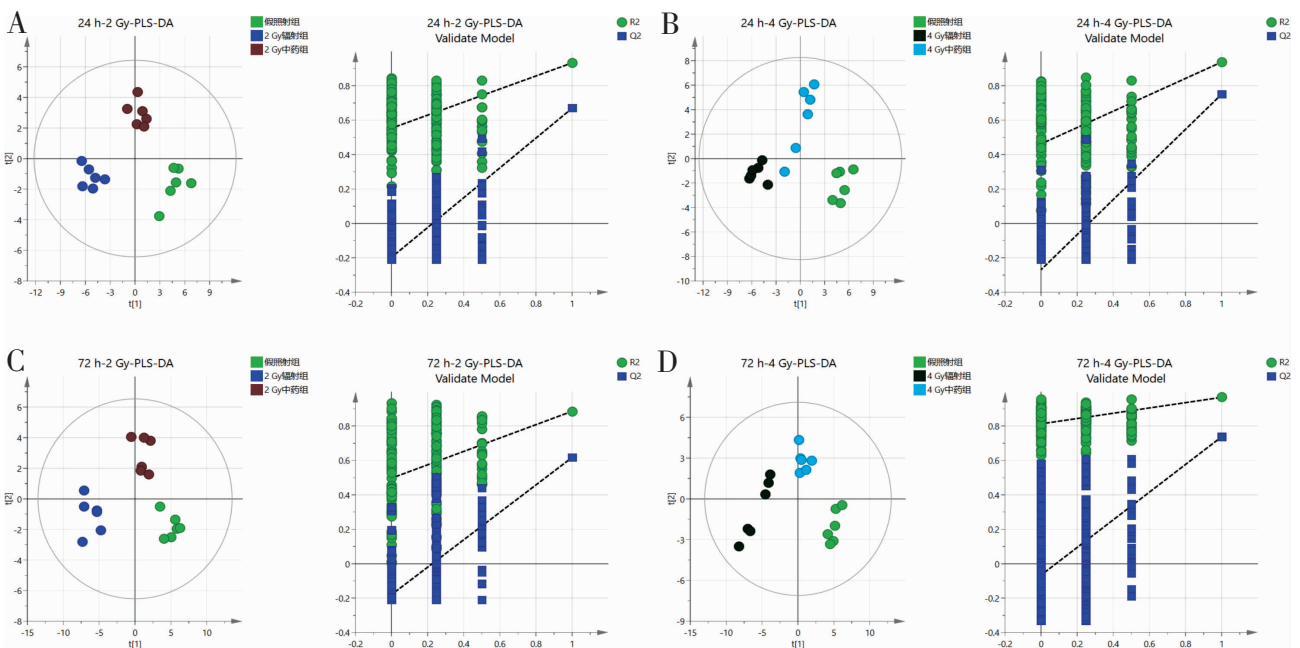
Gy-PLS-DA 的各项模型参数 $R^2X=0.377, R^2Y=0.809, Q^2=0.560, Intercept R^2=0.462, Intercept Q^2=-0.269$;72 h-2 Gy-PLS-DA 的各项模型参数 $R^2X=0.373, R^2Y=0.889, Q^2=0.546, Intercept R^2=0.496, Intercept Q^2=-0.179$;72 h-4 Gy-PLS-DA 的各项模型参数 $R^2X=0.429, R^2Y=0.964, Q^2=0.648, Intercept R^2=0.813, Intercept Q^2=-0.066$ 。所有模型中假照射组、辐射组和中药组均明显分离,所有模型的 200 次置换检验均显示 PLS-DA 模型未过拟合,可用于后续分析。PLS-DA 模型和 200 次置换检验见图 3。

24 h-2 Gy 假照射组与辐射组的 OPLS-DA 模型显示,在 95%置信区间内两组明显分离,模型参



注:A.24 h 各组大鼠 PCA-X 模型图;B.72 h 各组大鼠 PCA-X 模型图

图 2 各组大鼠 PCA-X 模型图



注:A.24 h-2 Gy-PLS-DA 模型图和 200 次置换检验图;B.24 h-4 Gy-PLS-DA 模型图和 200 次置换检验图;C.72 h-2 Gy-PLS-DA 模型图和 200 次置换检验图;D.72 h-4 Gy-PLS-DA 模型图和 200 次置换检验图

图 3 各组大鼠 PLS-DA 模型图和 200 次置换检验图

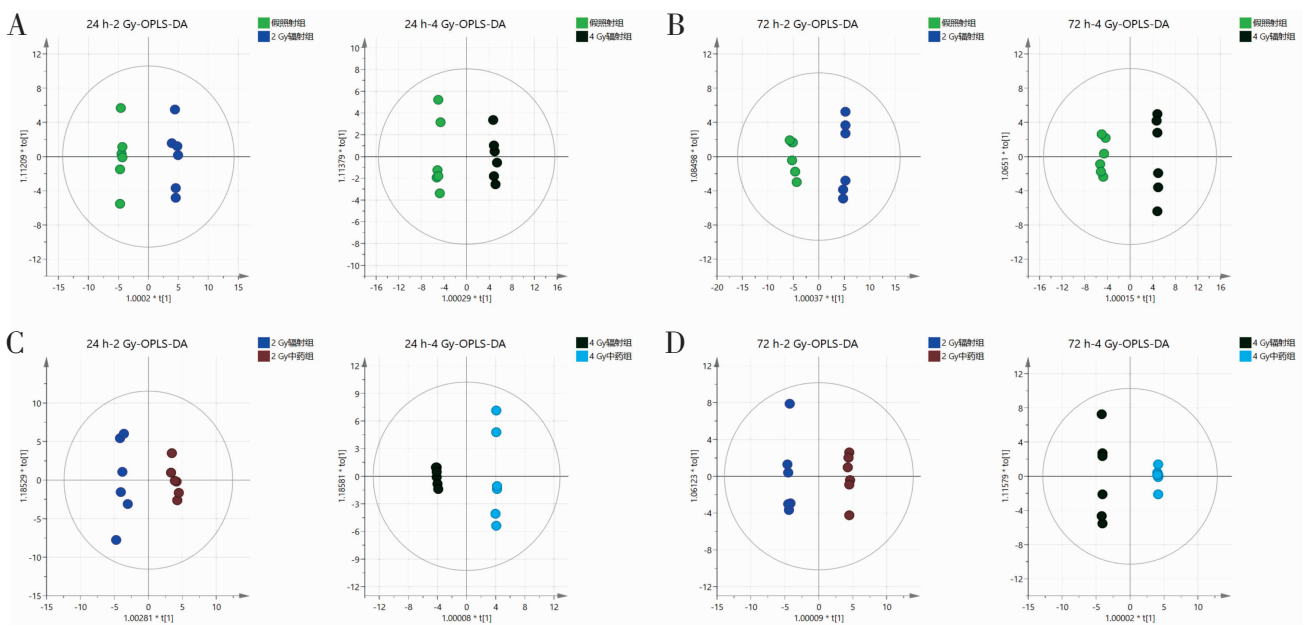
数 $R^2X=0.543, R^2Y=0.997, Q^2=0.934$ 。同理对其余时间点剂量点的假照射组和辐射组样本进行 OPLS-DA 模型拟合。24 h-4 Gy 假照射组和辐射组 OPLS-DA 模型各项参数 $R^2X=0.421, R^2Y=0.998, Q^2=0.932$; 72 h-2 Gy 假照射组和辐射组 OPLS-DA 模型各项参数 $R^2X=0.480, R^2Y=0.995, Q^2=0.926$; 72 h-4 Gy 假照射组和辐射组 OPLS-DA 模型各项参数 $R^2X=0.464, R^2Y=0.998, Q^2=0.935$ 。所有模型中假照射组和辐射组均明显分离。OPLS-DA 得分图见图 4A、4B。

24 h-2 Gy 辐射组和中药组的 OPLS-DA 模型显示,辐射组和中药组组间差异明显,模型各项参数 $R^2X=0.398, R^2Y=0.986, Q^2=0.819$ 。同理对其余时间点和剂量点的辐射组和中药组样本进行 OPLS-DA 模

型拟合。24 h-4 Gy 辐射组和中药组 OPLS-DA 模型各项参数 $R^2X=0.517, R^2Y=0.999, Q^2=0.855$; 72 h-2 Gy 辐射组和中药组 OPLS-DA 模型各项参数 $R^2X=0.490, R^2Y=0.999, Q^2=0.909$; 72 h-4 Gy 辐射组和中药组 OPLS-DA 模型各项参数 $R^2X=0.434, R^2Y=0.998, Q^2=0.853$ 。所有模型中辐射组和中药组均明显分离,模型成功建立。OPLS-DA 得分图见图 4C、4D。

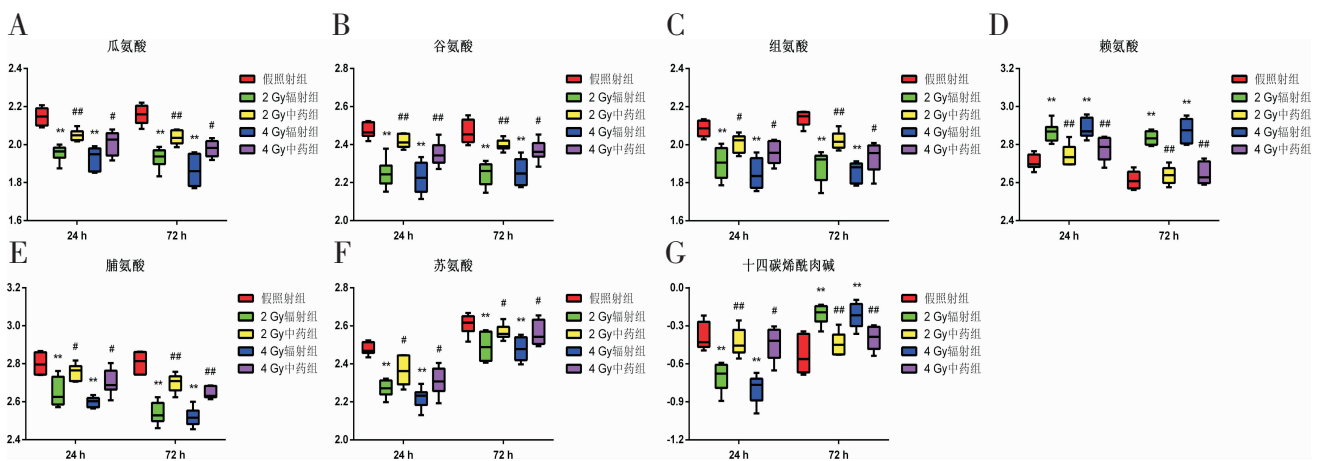
2.3 筛选差异代谢物和代谢通路

采用变量权重 $VIP(VIP>1)$ 、显著性差异 $P(P<0.05)$ 以和差异倍数 $FC(FC>1.2$ 或 $FC<0.83)$ 筛选补肾解毒方显著回调代谢物。与假照射组相比,辐射大鼠血清中赖氨酸含量明显升高 ($P<0.01$), 瓜氨酸、谷氨酸、组氨酸、脯氨酸含量明显降低 ($P<0.01$), 苏氨



注:A.24 h-2 Gy 和 24 h-4 Gy 假照射组和辐射组 OPLS-DA 模型图;B.72 h-2 Gy 和 72 h-4 Gy 假照射组和辐射组 OPLS-DA 模型图;C. 24 h-2 Gy 和 24 h-4 Gy 辐射组和中药组 OPLS-DA 模型图;D.72 h-2 Gy 和 72 h-4 Gy 辐射组和中药组 OPLS-DA 模型图

图 4 各组大鼠 OPLS-DA 模型图

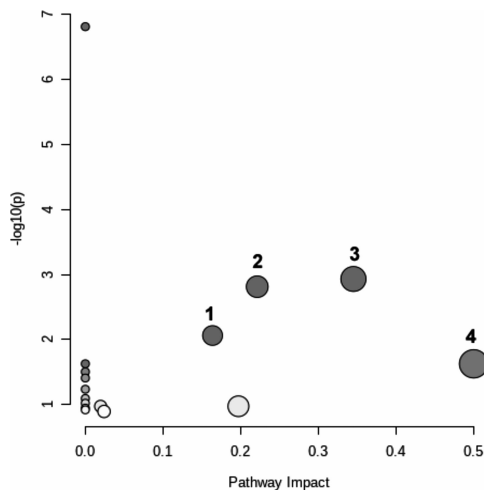


注:A.瓜氨酸;B.谷氨酸;C.组氨酸;D.赖氨酸;E.脯氨酸;F.苏氨酸;G.十四碳烯酰肉碱

图 5 补肾解毒方干预辐射后大鼠血清明显回调代谢物

酸和十四碳烯酰肉碱水平先降低后升高($P<0.01$);与辐射模型组相比,补肾解毒方干预后大鼠血清中瓜氨酸、谷氨酸、组氨酸、脯氨酸显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),赖氨酸水平明显降低($P<0.01$),苏氨酸和十四碳烯酰肉碱水平明显回调($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果见图5。

MetaboAnalyst 代谢通路分析显示,补肾解毒方的辐射损伤防护作用涉及4条显著性代谢通路,包括精氨酸生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、组氨酸代谢、D-谷氨酰胺和D-谷氨酸代谢。结果见图6。



注:1.精氨酸和脯氨酸代谢;2.组氨酸代谢;3.精氨酸生物合成;4.D-谷氨酰胺和D-谷氨酸代谢

图6 补肾解毒方干预回调代谢通路

3 讨论

本课题组从辐射病症和多年临床经验出发,结合动物实验结果,以六味地黄方为基础,加冬虫夏草和白花蛇舌草形成自拟方剂补肾解毒方,固肾之根本,保肺之娇脏,具有补虚损、益精气、解热毒的效能。

本实验基于代谢组学对补肾解毒方的辐射防护机制进行研究,发现补肾解毒方可以显著回调辐射大鼠血清中7个代谢物,包括瓜氨酸、谷氨酸、组氨酸、赖氨酸、脯氨酸、苏氨酸、十四碳烯酰肉碱,涉及精氨酸生物合成、精氨酸与脯氨酸代谢、组氨酸代谢和谷氨酰胺与谷氨酸代谢等通路,以上结果提示补肾解毒方的辐射防护效果可能是通过干预血清中多个代谢物靶点,引起内源性代谢物的明显回调,改善相关代谢通路。

瓜氨酸在精氨酸生物合成途径中发挥重要作用,有研究^[18-20]已证实瓜氨酸是辐射损伤的标志物。辐

射实验发现哺乳动物血清中瓜氨酸的含量以剂量和时间依赖性方式降低^[21]。Tang等^[22]发现辐射后72h,大鼠血浆中瓜氨酸含量随着辐射剂量增加而显著性下降,具有较好的剂量依赖关系^[22]。本实验发现补肾解毒方干预组大鼠血清瓜氨酸含量明显高于辐射模型组,推测辐射导致胃肠道受损,引起血清中瓜氨酸水平明显下降,补肾解毒方可以保护大鼠胃肠道,维持体内瓜氨酸水平稳定。

脯氨酸主要由精氨酸代谢产生,参与精氨酸与脯氨酸代谢途径,具有维持氮平衡、抗氧化等作用。文献报道^[23]脯氨酸可以清除活性氧并抑制三叶草细胞凋亡。对辐射恒河猴的血清和尿液进行检测,发现辐射7d后血清和尿液中脯氨酸含量均明显变化^[24]。本实验发现辐射后大鼠血清中脯氨酸明显下降,补肾解毒方干预组脯氨酸含量明显高于辐射模型组,说明补肾解毒方可以明显提高血清中脯氨酸含量,发挥较强的抗氧化作用。

组氨酸参与组氨酸代谢,在组氨酸脱羧酶的作用下形成组胺,广泛参与机体炎症反应,与核苷酸代谢密切相关。Miller等^[25]发现电离辐射能够升高CD47细胞中组氨酸、苏氨酸、甘氨酸等含量,可能与甲基稳态被破坏有关^[22,26]。本实验发现辐射后大鼠血清中组氨酸水平明显降低,可能原因是辐射损伤DNA、破坏机体甲基稳态和能量循环,造成组氨酸水平异常。补肾解毒方干预后大鼠血清中组氨酸含量回调,推测补肾解毒方可以维持血清中组氨酸含量,保证机体甲基稳态,修复DNA损伤。

谷氨酸与氨反应生成谷氨酰胺,并转移至肝脏参与尿素循环。研究^[27]发现电离辐射引起T细胞中谷氨酸和脯氨酸等氨基酸发生明显变化,对TCR触发的T细胞的代谢重编程有不良影响。本实验发现辐射模型组大鼠血清中谷氨酸含量明显下降,可能原因是辐射损伤肝脏代谢、中枢神经等组织,影响尿素循环等过程,补肾解毒方干预后,回调谷氨酸含量,维持机体内循环稳态。

本实验通过对辐射大鼠血清中氨基酸和酰基肉碱的检测,发现辐射降低大鼠血清中氨基酸和酰基肉碱的含量,改变大鼠血清代谢轮廓,补肾解毒方可以显著回调辐射大鼠血清中部分氨基酸和酰基肉碱的含量,干预精氨酸、谷氨酸等代谢途径,改善辐射大鼠血清代谢轮廓,发挥辐射防护作用。本实验从代

谢层面对补肾解毒方的辐射损伤防护机制进行初步探索,为进一步完善和丰富补肾解毒方辐射防护提供理论基础。

参考文献

- [1] GALE R P, ARMITAGE J O. Are we prepared for nuclear terrorism? [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2018, 378(25): 2449–2450.
- [2] BERTHO J M, ROY L, SOUIDI M, et al. Initial evaluation and follow-up of acute radiation syndrome in two patients from the Dakar accident [J]. *Biomarkers*, 2009, 14(2): 94–102.
- [3] MACVITTIE T J, FARESE A M, PARKER G A, et al. The gastrointestinal subsyndrome of the acute radiation syndrome in rhesus macaques: A systematic review of the lethal dose-response relationship with and without medical management [J]. *Health Physics*, 2019, 116(3): 305–338.
- [4] NICHOLSON J K, LINDON J C, HOLMES E. ‘Metabonomics’: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181–1189.
- [5] DUBEY D, KUMAR S, CHAURASIA S, et al. NMR-based serum metabolomics revealed distinctive metabolic patterns in reactive arthritis compared with rheumatoid arthritis [J]. *Journal of Proteome Research*, 2019, 18(1): 130–146.
- [6] 许小敏,王磊,卢志伟,等.中医药预防辐射氧化损伤的研究进展 [J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(12): 2977–2978.
- [7] 张蓉,石鹏展,杨云霜,等.从肾阴亏虚探讨核辐射损伤的中医病因病机 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2014, 34(3): 40–42.
- [8] 杨云霜,张蓉,李延晖,等.从肾论治核辐射损伤中医病因病机 [J]. *长春中医药大学学报*, 2012, 28(6): 1021–1022.
- [9] 石鹏展,张蓉,杨云霜,等.关于核辐射与中医火邪致病的理论探讨 [J]. *陕西中医*, 2013, 34(9): 1196–1197.
- [10] 乔祚,曹惠敏,李延晖,等.补肾解毒方对低剂量辐射孕鼠胎盘组织氧化损伤及妊娠结局的影响 [J]. *暨南大学学报: 自然科学与医学版*, 2020, 41(1): 86–91, 98.
- [11] 曹惠敏,杨云霜,余雷,等.补肾解毒方对小鼠胸腺、脾脏及外周血白细胞、淋巴细胞的辐射防护作用 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2020, 40(3): 280–285.
- [12] 匡振坤,杨云霜,赵雪,等.补肾解毒方对核辐射致雌鼠生殖系统损伤的防护作用 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(7): 2816–2819.
- [13] 陶蓓蓓,李鹏飞,张绪得,等.液相色谱-串联质谱在全谱氨基酸检测中的应用 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2012, 4(1): 59–61.
- [14] 吕清麟,臧清策,张瑞萍,等.细胞酰基肉碱代谢谱的定量分析方法研究 [C]// 第三届全国质谱分析学术报告会论文集. 厦门, 2017: 50.
- [15] 王佳佳. 氨基酸代谢与肾脏疾病 [J]. *国际儿科学杂志*, 2020, 47(12): 871–874.
- [16] ZAMBRANO S, BLANCA A J, RUIZ-ARMENTA M V, et al. 左旋肉碱通过上调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 水平减轻高血压大鼠肾脏纤维化 [J]. *中华高血压杂志*, 2014, 22(5): 498.
- [17] 徐叔云. *药理实验方法学* [M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [18] SAITOH W, TAKADA S, HIRAO J, et al. Plasma citrulline is a sensitive safety biomarker for small intestinal injury in rats [J]. *Toxicology Letters*, 2018, 295: 416–423.
- [19] JONES J W, TUDOR G, LI F, et al. Citrulline as a biomarker in the murine total-body irradiation model: Correlation of circulating and tissue citrulline to small intestine epithelial histopathology [J]. *Health Physics*, 2015, 109(5): 452–465.
- [20] GOUDARZI M, CHAUTHE S, STRAWN S J, et al. Quantitative metabolomic analysis of urinary citrulline and calcitric acid in mice after exposure to various types of ionizing radiation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(5): E782.
- [21] BUJOLD K, HAUER-JENSEN M, DONINI O, et al. Citrulline as a biomarker for gastrointestinal-acute radiation syndrome: Species differences and experimental condition effects [J]. *Radiation Research*, 2016, 186(1): 71–78.
- [22] TANG X X, ZHENG M C, ZHANG Y Y, et al. Estimation value of plasma amino acid target analysis to the acute radiation injury early triage in the rat model [J]. *Metabolomics*, 2013, 9(4): 853–863.
- [23] CHEN C B, DICKMAN M B. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii* [J]. *PNAS*, 2005, 102(9): 3459–3464.
- [24] PANNUK E L, LAIAKIS E C, GILL K, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolomics of nonhuman Primates after 4 Gy total body radiation exposure: Global effects and targeted panels [J]. *Journal of Proteome Research*, 2019, 18(5): 2260–2269.
- [25] MILLER T W, SOTO-PANTOJA D R, SCHWARTZ A L, et al. CD47 receptor globally regulates metabolic pathways that control resistance to ionizing radiation [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(41): 24858–24874.
- [26] ZHANG Y Y, ZHOU X, LI C, et al. Assessment of early triage for acute radiation injury in rat model based on urinary amino acid target analysis [J]. *Molecular BioSystems*, 2014, 10(6): 1441–1449.
- [27] LI H H, WANG Y W, CHEN R X, et al. Ionizing radiation impairs T cell activation by affecting metabolic reprogramming [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2015, 11(7): 726–736.