

综 述

类二十烷酸代谢组学在心血管疾病研究中的应用与进展

鲍乾坤¹, 张栩², 朱毅^{2,*}

¹天津市心血管病离子与分子机能重点实验室, 天津医科大学第二医院心脏科, 天津心脏病学研究所, 天津 300211; ²天津市代谢性心血管疾病重点实验室, 免疫微环境与疾病教育部重点实验室, 天津医科大学基础医学院生理学与病理生理学系, 天津医学表观遗传学协同创新中心, 天津 300070

摘要: 类二十烷酸是一类由多不饱和脂肪酸代谢而成的脂质活性分子。近年来, 类二十烷酸在心血管系统疾病中的作用和调控机制受到广泛关注。在哺乳动物体内, 类二十烷酸主要由花生四烯酸和其他多不饱和脂肪酸经四种途径代谢生成, 包括环氧化酶途径、脂氧化酶途径、细胞色素P450氧化酶途径以及自发氧化途径。由于类二十烷酸代谢调控呈现出高度复杂的网络特性, 因此, 代谢组学成为系统研究类二十烷酸代谢网络调控的有效策略。本文将对类二十烷酸的生物合成及其功能、类二十烷酸代谢组学的研究策略及其在心血管疾病中的应用和研究进展进行综述, 以期为中心血管系统生理过程调控机制提供理论基础以及为临床精准治疗提供新的思路和策略。

关键词: 类二十烷酸; 花生四烯酸; 代谢组学; 动脉粥样硬化; 心肌梗死

中图分类号: R34; R363; R5

Research progress of eicosanoid metabolomics in cardiovascular diseases

BAO Qian-Kun¹, ZHANG Xu², ZHU Yi^{2,*}

¹Tianjin Key Laboratory of Ionic-Molecular Function of Cardiovascular Disease, Tianjin Institute of Cardiology, Department of Cardiology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; ²Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, Key Laboratory of Immune Microenvironment and Disease-Ministry of Education, Department of Physiology and Pathophysiology, Collaborative Innovation Center of Tianjin for Medical Epigenetics, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Eicosanoids are oxidized derivatives of 20-carbon polyunsaturated fatty acids (PUFAs). In recent years, the role and mechanism of eicosanoids in cardiovascular diseases have attracted extensive attention. Substrate PUFAs including arachidonic acid are metabolized by cyclooxygenase, lipoxygenase, cytochrome P450 oxidase enzymes, or non-enzymatic auto-oxidation. Eicosanoid metabolomics is an effective approach to study the complex metabolic network of eicosanoids. In this review, we discussed the biosynthesis and functional activities of eicosanoids, the strategies of eicosanoid metabolomics, and applications and research progress of eicosanoid metabolomics in cardiovascular diseases, which might offer new insights and strategies for the treatment of cardiovascular diseases.

Key words: eicosanoid; arachidonic acid; metabolomics; atherosclerosis; myocardial infarction

1 类二十烷酸生物合成及其重要功能

类二十烷酸 (eicosanoid) 是从花生四烯酸及其相关多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid,

PUFA) 代谢而来的一系列具有生物活性的脂质分子^[1]。花生四烯酸是顺式 -5,8,11,14- 二十碳四烯酸, 属于 n-6 PUFA, 简记为 20:4 (n-6)^[2], 它与其他 n-6

Received 2021-03-25 Accepted 2021-05-25

Research from the corresponding author's laboratory was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81730014, 81800251) and Tianjin Municipal Science and Technology Project, China (No. 20JCQNJC00540).

*Corresponding author. Tel: +86-22-83336591; E-mail: zhuyi@tmu.edu.cn

和 n-3 PUFA 经过各自的氧化反应可以代谢生成数以百计不同结构的类二十烷酸衍生物^[1,3]。

1.1 花生四烯酸的合成

大多数类二十烷酸代谢以游离的花生四烯酸为底物，但花生四烯酸主要以酯化形式存储^[1]。人体外源性花生四烯酸的摄取一方面来自富含花生四烯酸的食物，如瘦肉、脂肪、鸡蛋、鲑鱼和金枪鱼等；另一方面花生四烯酸可以从亚油酸 (linoleic acid) 代谢而来，后者主要存在于植物油和核桃中^[4]。内源性游离花生四烯酸主要从细胞膜磷脂中释放而来^[1]，而磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2) 是促进游离花生四烯酸水平提高的关键代谢酶^[4]。尤其在炎症状态下，PLA2 可以进一步促进花生四烯酸代谢，在类二十烷酸生物合成中起到至关重要的作用^[1]。还有另外两个磷脂酶家族，即磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 和磷脂酶 D (phospholipase D, PLD)，通过中间产物如二酰基甘油 (diacylglycerol, DAG) 产生花生四烯酸^[5,6]。

PLA2 超家族中有三个成员与细胞中类二十烷酸的产生密切相关：胞质钙依赖性 PLA2 (cytosolic calcium-dependent PLA2, cPLA2)、非钙离子依赖性 PLA2 (cytosolic calcium-independent PLA2, iPLA2) 和分泌性 PLA2 (secreted PLA2, sPLA2)。cPLA2 在生理状态下大部分处于非激活状态，而在感染或炎症反应过程中，当 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR)、嘌呤受体等激活时，cPLA2 易位至核周和内质网膜上，在其中水解含有花生四烯酸的磷脂，导致促炎性的类二十烷酸的产生^[7]。iPLA2 主要参与细胞稳态调控，尤其是细胞膜稳态和重构以及基础水平的游离脂肪酸的释放，对特定酯化脂肪酸的特异性相对较低，但对花生四烯酸的脱酯化可能起到作用^[8,9]。sPLA2 是一种诱导酶，可增强 cPLA2 的功能，以控制包括花生四烯酸在内的游离脂肪酸的升高程度和持续时间^[10]。PLA2 在炎症反应的不同阶段调节类二十烷酸反应，并且很可能通过各种受体介导的信号来调节类二十烷酸反应^[1]。

1.2 花生四烯酸代谢产物及其生物功能

三大酶促反应通路进一步催化游离的花生四烯酸，从而产生大量具有多种功能的代谢衍生物^[11] (图 1)。

首先，环氧合酶 (cyclooxygenase, COX)，也称为前列腺素 G/H 合酶 (prostaglandin G/H synthases) 催化花生四烯酸的氧化，促进血栓烷素 A2 (thromboxane A2, TXA₂)、前列环素 (prostacyclin) 和其他

几种前列腺素 (prostaglandins, PGs) 的产生^[12,13]。COX 有两种亚型，即 COX-1 和 COX-2，两者在活性位点上存在结构差异，但对于花生四烯酸转化为类前列腺素 (prostanoids)、氧化形成 PGG₂ 和过氧化生成 PGH₂ 的酶反应步骤是相同的^[12]。TXA₂ 和 PGD₂ 可以改变血管张力、介导血小板聚集以及参与免疫监视^[14,15]。PGE₂、PGI₂、PGD₂ 和 PGF_{2α} 参与免疫反应调控，并在血管张力调节、血栓形成、疼痛耐受、神经变性以及癌症过程中发挥调控作用^[16,17]。PGF_{2α} 在肾功能、血管收缩、心肌功能障碍、脑损伤以及疼痛中具有重要作用^[18-20]。PGF 受体激动剂在青光眼治疗中被广泛用于降低眼压^[21]。在糖尿病视网膜病变中，与增殖性病变相比，非增殖性病变患者血浆中 PGF_{2α} 显著降低，且与非增殖性病变程度呈负相关^[22]。此外，PGF_{2α} 能够导致急性炎症的发生^[23]，在 PGF 受体或 TXA₂ 受体缺失的小鼠中炎症诱导的心动过速显著减弱，而在两者共同缺失的小鼠中炎症诱导的心动过速完全消失^[19]。PGF 受体缺失还可以特异性地抑制微生物引起的肺纤维化^[24]。心血管疾病危险因素，如糖尿病、肥胖、吸烟和颈动脉内膜-中膜比增厚，与 PGF₂ 代谢产物升高以及体液中白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和 C 反应蛋白 (C-reactive protein) 有不同程度相关性^[25,26]。尽管 Yu 等在高脂血症小鼠大血管和动脉粥样硬化斑块中没有检测到 PGF 受体，但他们发现 PGF 受体缺失可以降低血压，并延后伴随的动脉粥样硬化的发生^[27]。

第二，人类基因组可编码表达 6 种有功能的脂氧合酶 (lipoxygenases, LOX)，即 ALOX15 (arachidonate 15-lipoxygenase-1)、ALOX15B (arachidonate 15-lipoxygenase type II)、ALOX12 (arachidonate 12-lipoxygenase)、ALOX12B (arachidonate 12-lipoxygenase, 12R type)、ALOXE3 (epidermis-type lipoxygenase) 和 ALOX5 (arachidonate 5-lipoxygenase)，可以氧化花生四烯酸^[28]。ALOX15 在嗜酸性粒细胞、支气管肺泡上皮细胞和 IL-4 处理的单核细胞中高水平表达^[28]。ALOX15 可以产生 15-HpETE (15-hydroperoxyeicosatetraenoic acid)，进而代谢生成 15-HETE (15-hydroxyicosatetraenoic acid)，还可以产生 12-HpETE 和 12-HETE 以及 hepxilins^[29]。此外，ALOX15 可以将亚油酸代谢生成 13-HpODE (13-hydroperoxyoctadecaenoic acid)，进而产生 13-HODE (13-hydroxyoctadecaenoic acid)^[29]。ALOX15B 在上皮细胞中高表

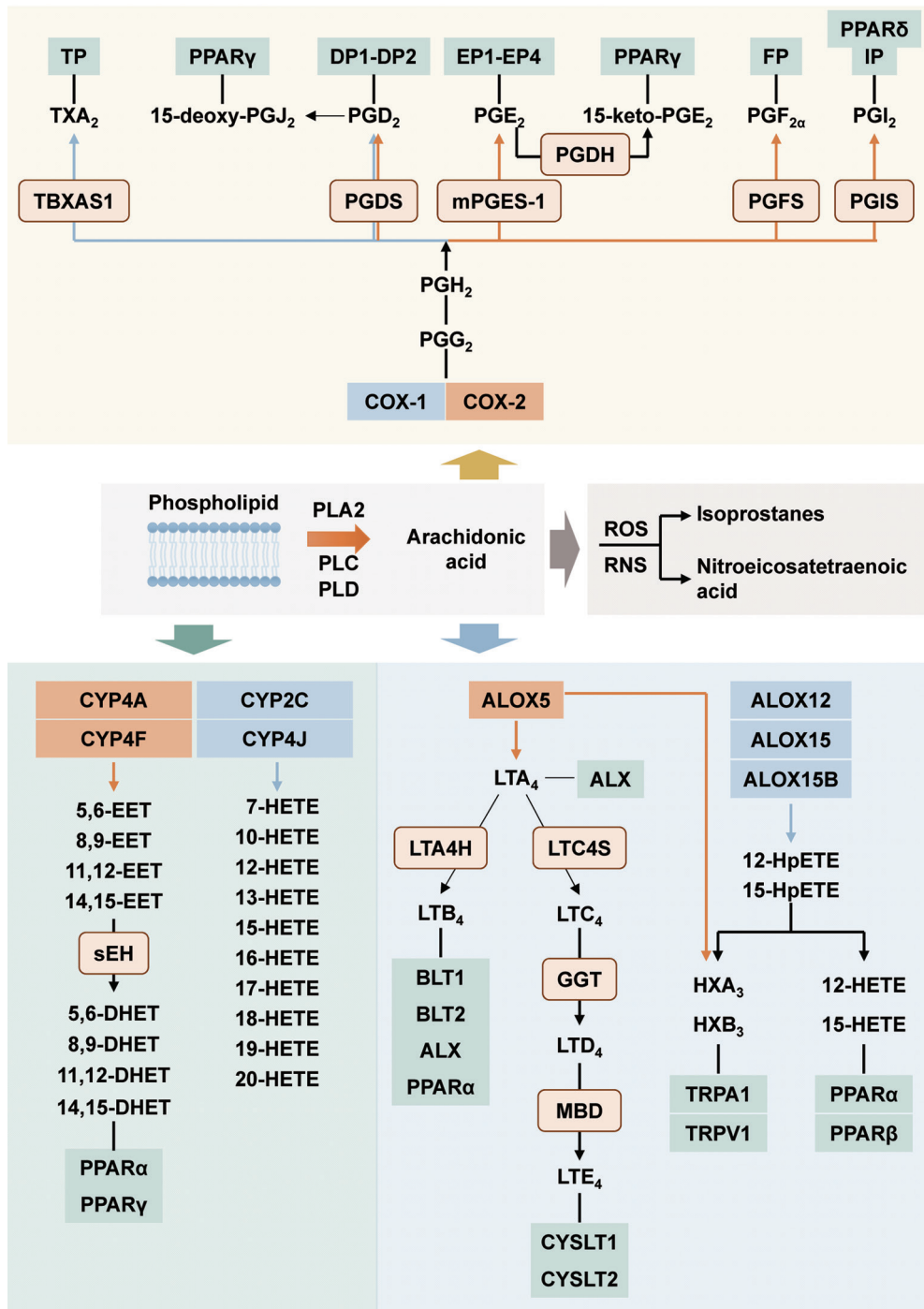


图 1. 花生四烯酸代谢产物及其受体

Fig. 1. Arachidonic acid metabolites and receptors. An integrated view of cyclooxygenase, lipoxygenase, cytochrome P450 pathways, and non-enzymatic auto-oxidation of arachidonic acids and receptors signaling. ALOX, arachidonate lipoxygenase; COX, cyclooxygenase; CYP, cytochrome P; CYSLT, cysteinyl leukotriene receptor; DP, PGD₂ receptor; EET, epoxyeicosatrienoic acid; EP, PGE receptor; FP, PGF receptor; GGT, γ -glutamyltransferase; HETE, hydroxyicosatetraenoic acid; HpETE, hydroperoxyeicosatetraenoic acid; HX, hepxilin; IP, PGI receptor; LT, leukotrienes; LTA₄H, LTA₄ hydrolase; LTC₄S, LTC₄ synthase; MBD, membrane-bound dipeptidase; mPGES-1, microsomal prostaglandin E synthase-1; PGD₂, prostaglandin D₂; PGDH, PG dehydrogenase; PGDS, prostaglandin D₂ synthase; PGE₂, prostaglandin E₂; PGF_{2 α} , prostaglandin F_{2 α} ; PGFS, PGF synthase; PGG₂, prostaglandin G₂; PGH₂, prostaglandin H₂; PGI₂, prostaglandin I₂; PGIS, PGI synthase; PLA2, phospholipase A₂; PLC, phospholipase C; PLD, phospholipase D; PPAR, peroxisome-proliferator activated receptors; sEH, soluble epoxide hydrolase; TBXAS1, thromboxane A synthase 1; TP, thromboxane receptor; TRPA1, transient receptor potential ankyrin 1; TXA₂, thromboxane A₂.

达，可以将花生四烯酸代谢生成 15-HpETE 和 15-HETE。ALOX12 在血小板中高表达，可以将花生四烯酸代谢生成 12-HpETE 和 12-HETE 以及不同的 hepxilins^[28, 29]。ALOX12B 与 ALOXE3 在皮肤中共表达，在上皮细胞分化和上皮水屏障形成中具有重要作用^[28]。鞘氨醇 (sphingosine) 是 ALOX12B 重要的生理底物，此外，ALOX12B 可以将花生四烯酸代谢生成 12R-HETE，但催化活性很低^[29]。ALOXE3 只显示出潜在的双加氧酶活性，而其主要活性是作为一种过氧化氢异构酶，将某些不饱和的过氧化氢脂肪酸代谢成相应的环氧醇和环氧酮衍生物，因此也被归类为环氧辛合酶^[29]。ALOX5 基因编码 5-LOX，在白三烯 (leukotrienes, LTs) 生物合成中起主要作用^[28]。ALOX5 可以代谢花生四烯酸生成 5-HpETE，进而代谢产生 5-HETE、5-oxo-ETE (5-oxoeicosatetraenoic acid)、LTA₄、LTB₄、LTC₄、LTE₄ 以及特异性促炎症消退介质 (specialized pro-resolving mediators, SPM)、脂氧素 A₄ (lipoxin A₄, LXA₄) 和 LXB₄^[30, 31]。这些代谢物在中性粒细胞募集和渗出、上皮屏障功能调节、血管通透性和支气管收缩等生理过程中发挥重要作用^[32]。在同型半胱氨酸血症小鼠肝脏中，LXA₄ 含量显著增加；过表达 LXA₄ 的失活酶 15-氧代前列腺素 13-还原酶 1 (15-oxo-prostaglandin 13-reductase 1) 抑制了高同型半胱氨酸诱导的芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AHR) 的激活，进一步抑制了脂质摄取和脂质沉积^[33]。

第三，细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 氧化酶途径主要局限于肝脏，部分 CYP450 酶具有环氧化酶 (epoxygenase) 活性和 ω -羟化酶 (ω -hydroxylase) 活性，它们促进环氧二十碳三烯酸 (epoxyeicosatrienoic acid, EET) 和 HETE 的产生。20-HETE 由花生四烯酸经 CYP4A 和 CYP4F 细胞色素 P450 蛋白家族成员衍生而来。20-HETE 通过介导动脉对血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、内皮素 -1 (endothelin-1) 和一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的反应，在调节肾功能和动脉压方面发挥重要作用^[34, 35]。此外，20-HETE 还可以通过诱导内皮型 NO 合酶 (endothelial NO synthase, eNOS) 解耦联或激活 MEK/ERK 通路引起内皮细胞的激活和损伤^[36]。COX-2 抑制剂可以升高小鼠体内 20-HETE 表达水平，进而参与凝血和 ADP 诱导的血小板聚集等相关生理过程^[37]。20-HETE 对凝血具有多种作用，一方面 20-HETE 通过竞争性阻断血栓内过氧化物

受体抑制花生四烯酸和 TX 诱导的血小板凝集^[38, 39]，另一方面通过上调 vWF 表达和分泌来促进血小板黏附^[40]。治疗性抑制 20-HETE 能够改善 COX-2 抑制剂引起的凝血功能障碍，可能会成为治疗血栓形成相关的心血管疾病的有效手段^[40]。EET 是维持水和电解质平衡必要的环氧脂肪酸^[41]。高盐饮食导致 EET 产生不足，将进一步引起盐敏感性高血压^[42]。EET 具有扩张血管、抑制上皮钠通道和抑制炎症等作用，对阻力动脉、心脏和肾脏具有保护作用^[42]。通过遗传性和药理学手段提高 EET 水平，能够抑制炎症并发挥抗高血压及器官保护性作用^[42]。此外，EET 水解酶可溶性环氧化物水解酶 (soluble epoxide hydrolase, sEH) 抑制剂已被开发并进入临床试验，用于高血压、糖尿病等相关疾病的治疗^[41]。

最后，游离花生四烯酸也可以通过非酶促反应进行自发氧化^[4]。花生四烯酸的四个双键容易被氧化形成生物活性分子，当其暴露于活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 下会导致花生四烯酸氧化，并生成异前列腺素 (isoprostanes) 和亚硝基二十碳四烯酸 (nitroicosatetraenoic acid)^[43]。这些类二十烷酸可以抑制 COX-1，而异前列腺素与血小板聚集、血管收缩、平滑肌细胞增殖以及心肌肥大等生理过程有关^[44]。

1.3 n-3 PUFA 代谢产物及其生物功能

n-3 PUFA 主要包括二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA) 和二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA)^[45]。EPA 和 DHA 存在于细胞膜磷脂中，并在其代谢生成类二十烷酸的过程中，与花生四烯酸使用相同的酶^[45]。EPA 和 DHA 可以被 COX、LOX 和 CYP450 三条通路代谢生成大量类二十烷酸^[45, 46]。EPA 和 DHA 长期以来被认为具有抗炎的特性，因为它们与花生四烯酸竞争，能减少促炎性的类二十烷酸的产生^[46]。饮食补充 n-3 PUFA 能够通过抑制脂肪组织中巨噬细胞炎症反应，逆转高脂饮食喂养的小鼠肝脏脂质沉积^[47]。17,18-EEQ (17,18-epoxyeicosatetraenoic acid)、5-HEPE (5-hydroxyeicosapentaenoic acid) 和 9-HEPE 作为主要发挥作用的类二十烷酸代谢产物，能够抑制巨噬细胞中炎症因子的表达和棕榈酸诱导的 JNK 通路的激活^[47]。此外，EPA 和 DHA 可以产生结构上不同的信号分子家族 (图 2)，即 resolvins (Rvs)、protectins 和 maresins (MaRs)，作为 SPM 促进炎症的消退，有助于在组织损伤或感染后重建体内平衡^[46, 48]。在急性炎症后，SPM

可以减少细胞因子和细胞外 ROS 的产生, 抑制粒细胞募集, 还可以通过影响巨噬细胞对细胞碎片的清除来调节炎症反应^[49]。

Rvs 是指具有特异性结构的脂质分子, 在炎症消散过程中其生物合成具有时间特异性。Rvs 能够通过单核 / 巨噬细胞吞噬细胞碎片、凋亡的多形核中性粒细胞和病原微生物促进炎症消散, 有效地发挥抗炎特性^[50]。18-HEPE 和 RvE1-E3 从 EPA 代谢而来, 其活性在 pg~ng 范围^[50]。18-HEPE 具有心脏保护作用, 能够预防压力负荷诱导的心肌重构^[51]。RvE1 可以通过 G 蛋白耦联受体 ERV1/ChemR23 逆转高胰岛素血症和高血糖, 并通过改善脂肪组织炎症减轻肥胖患者的代谢损伤^[52]。此外, 在主动脉瓣狭窄患者的病变组织中, 与非钙化区相比, 钙化区组织中 RvE1 水平降低^[53]。RvE1 受体 ChemR23 在人主动脉瓣中表达, RvE1 在体外可减少人瓣膜间质细胞的钙化^[53]。RvD1~RvD6 是从 DHA 代谢而来的^[46]。RvD4 在血栓溶解开始时增加, 给予小鼠 RvD4 可显著减少血栓负荷以及血栓内中性粒细胞浸润, 同时增加血栓中促炎症消散的单核细胞数

量^[54]。此外, RvD4 还可以进一步促进其他参与促进炎症消散的 RvDs 的生物合成^[54]。

Protectins 是 DHA 通过环氧化物中间体产生的具有结构特异性和生物活性的脂质分子^[55]。Protectin D1 (PD1) 是从 16(17) 环氧化物中间体 [16(17) epoxide-intermediate] 经酶促反应生成^[55]。多形核中性粒细胞、巨噬细胞和嗜酸性粒细胞均能产生 PD1, 并且在严重哮喘患者中 PD1 的生成减少^[55]。神经系统中产生的 PD1 称为 neuroprotectin D1, 对视网膜和神经系统起到有效的保护作用^[56]。

MaRs 的生物合成是 DHA 通过 12-LOX 在碳 -14 位点开始的, 经 13(14) 环氧化物中间体 [13(14)epoxide-intermediate] 产生^[50]。MaRs 促进巨噬细胞从 M1 向 M2 的转化, 并能够阻断 LTA₄ 水解酶 (LTA₄ hydrolase, LTA4H) 的作用^[57]。此外, MaR1 和 MaR2 还具有介导疼痛和组织再生作用^[58]。

2 类二十烷酸代谢组学的研究策略及优势

2.1 利用代谢组学策略研究类二十烷酸代谢的意义

类二十烷酸分子种类繁多, 代谢途径复杂, 在

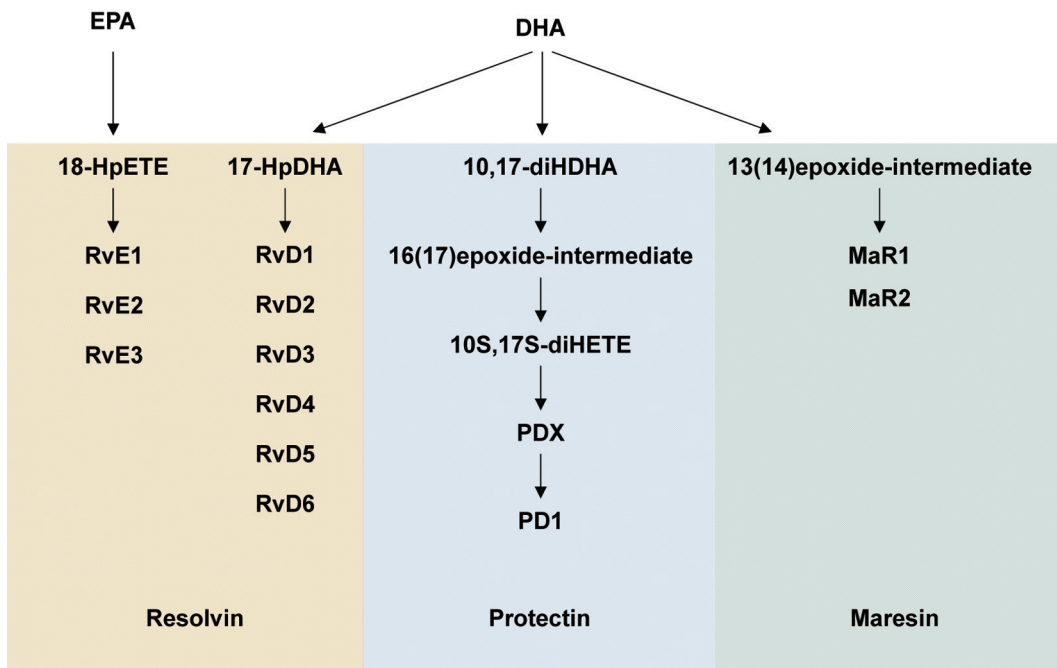


图 2. n-3 多不饱和脂肪酸代谢生成的特异性促炎症消退介质

Fig. 2. Production of specialized pro-resolving mediators from n-3 polyunsaturated fatty acids. The picture offered an integrated view of specialized pro-resolving mediators from n-3 polyunsaturated fatty acids. EPA, eicosapentaenoic acid; DHA, docosahexaenoic acid; 18-HpETE, 18-hydroperoxyeicosatetraenoic acid; RvE, resolvin E; 17-HpDHA, 17-hydroperoxydocosahexaenoic acid; PDX, protectin DX; PD1, protectin D1; MaR, maresin.

生物学过程中往往存在多个代谢产物同时变化的情况，仅仅关注某一种代谢产物可能会忽略更关键的变化^[59]。对类二十烷酸代谢的研究需要同时关注多个代谢产物乃至整个代谢网络的变化特征^[59]。在早期研究中，对类二十烷酸分子的检测主要是通过酶联免疫测定和放射免疫测定方法^[60]。然而，这些方法仅能分析少量类二十烷酸分子，限制了对类二十烷酸代谢过程的研究效率^[60]。此外，对于结构相似的类二十烷酸分子，免疫学测定方法特异性较低^[60]。因此，这类方法在研究类二十烷酸代谢时具有局限性。随着核磁共振、液相色谱-质谱联用技术的进步，基于代谢组学的策略为类二十烷酸代谢研究打开了新局面。

2.2 靶向类二十烷酸代谢组学

高效液相色谱-串联质谱联用(HPLC coupled to tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)法具有高灵敏度、高特异性、高选择性的特点，能够高通量检测生物样本中多种化合物，是目前脂质组学最常用技术^[61]。对于类二十烷酸类的代谢产物，一般使用多反应监测的扫描策略(multiple reaction monitoring, MRM)^[61]。在该模式下，具有特定质量电荷比(m/z)的离子(母离子)在第一个四极杆(Q1)中被选择通过，在Q2中与惰性气体分子碰撞产生碎片，随后具有特定 m/z 的碎片离子在Q3中被选择通过，到达检测器形成信号^[62]。MRM通过Q1和Q3的离子组合(MRM离子对)达到特异性地检测化合物的目的^[62]。目前已有国内外多个实验室基于各自的检测平台利用这种策略建立了类二十烷酸的靶向代谢组学检测方法^[59, 62-64]。以这种策略建立靶向代谢组学方法需要执行三个步骤：(1)获得要研究的类二十烷酸的标准化合物；(2)通过标准化合物为每种类二十烷酸建立并优化MRM参数；(3)开发液相色谱方法分离所分析的类二十烷酸。完成上述步骤的首要任务是确定研究哪些类二十烷酸，并获得相应的标准化合物。

2.3 “二级质谱辅助”的类二十烷酸代谢组学(spectrum evaluation-assisted eicosanoid metabolomics, SEEM)

在实际应用中，研究者往往不能事先明确需要研究哪种类二十烷酸，或者无法商业获得要研究的类二十烷酸标准品(此处称为“未知类二十烷酸”)。因此，传统的靶向代谢组学策略具有一定的局限性。为此本研究组开发了一种“二级质谱辅助”的

SEEM。在建立这个方法之前，本研究组首先收集了所有文献报道过的类二十烷酸分子的二级质谱信息和液相色谱保留时间，并建立了数据库。本研究组基于“多反应监测触发增强型离子扫描”(multiple reaction monitoring-information dependent acquisition-enhanced product ion, MRM-IDA-EPI)的模式建立质谱方法，在通过MRM获得定量信息的同时通过EPI扫描获得二级质谱的定性信息。本研究组将MRM峰的色谱保留时间及其触发的二级质谱与数据库中收集到的信息比对，从而鉴定未知类二十烷酸。通过使用这种扫描模式，可以相对定量地分析243种类二十烷酸(包括167种“未知类二十烷酸”)，其准确度超过90%。SEEM方法目前涵盖了已经通过LC-MS方法研究过的大多数类二十烷酸，而且该方法具有可扩展性，新发现的类二十烷酸的MRM离子对都可以添加到SEEM方法中。这种方法大大提高了检测效率并扩大了检测范围，为我们今后探寻类二十烷酸的网络调控建立了可靠的研究手段^[59]。

3 类二十烷酸代谢组学在代谢性心血管疾病研究中的应用

类二十烷酸代谢产物大多在心血管系统中具有重要的调控作用。代谢组学方法能敏感地捕获由于细胞环境变化引起的代谢信息的改变。因此，代谢组学方法已成为获取由类二十烷酸引起的整体代谢变化信息的重要工具，为阐明类二十烷酸的功能及在心血管疾病病理生理学调控机制中的关键作用提供技术手段，同时也为发现可能的疾病干预靶点、发展新的治疗策略以及开发新型药物提供理论和实验依据。

3.1 类二十烷酸代谢组学在动脉粥样硬化及内皮细胞功能调控机制中的应用

本研究组运用类二十烷酸代谢组学策略研究n-3 PUFA饮食对小鼠血浆和主动脉类二十烷酸代谢谱的改变^[62]。在主动脉代谢谱中，一些促炎症和促动脉粥样硬化的花生四烯酸代谢产物如PGD₂、PGE₂、PGF_{2 α} 和TXB₂以及促进血管收缩的12-HETE显著降低^[62]。相反，n-3 PUFA衍生的类二十烷酸的含量增加，在主动脉中产生了3个EEQs和2个EDPs。与EET一样，EPA和DHA的这些环氧代谢产物也具有血管舒张和抗炎作用，并且EEQ和EDP的作用比EET更强^[65]。除了主要的环氧化物

(17,18-EEQ 和 19,20-EDP), 一些少见的 11,12-EEQ、13,14-EEQ 和 16,17-EDP 在小鼠主动脉中的含量也明显提高, 这表明主动脉中的 CYP 酶过多或主动脉中含有一些倾向于生成这些产物的酶^[62]。除了增加有益的环氧类二十烷酸外, n-3 PUFA 饮食还增加了一些羟基类二十烷酸的代谢水平, 某些 n-3 PUFA 来源的羟基类二十烷酸可能发挥有益作用。例如, 18-HEPE 可能抑制心脏成纤维细胞的活化和压力负荷诱导的心肌重构^[51]。

本研究组进一步研究了 n-3 PUFA 在动脉粥样硬化中保护作用的机制。与单纯西方饮食喂养的 *LDLR*^{-/-} 小鼠相比, 西方饮食补充 n-3 PUFA 明显延缓了 *LDLR*^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化的发展^[66]。本研究组用代谢组学分析 n-3 PUFA 喂养后 *LDLR*^{-/-} 小鼠血浆类二十烷酸代谢谱的改变情况, 发现 EPA 的代谢产物 HEPE 和 EEQ 可能参与 n-3 PUFA 介导的抗动脉粥样硬化作用。进一步细胞实验结果显示, 18-HEPE 和 17,18-EEQ 在内皮细胞中通过抑制 NF- κ B 通路逆转内皮细胞激活和单核细胞黏附, 从而发挥抗炎作用^[66]。

既往研究表明动脉粥样硬化患者全基因组甲基化状态异常^[67], 血管中花生四烯酸代谢失衡可能会影响血管稳态调控^[68]。同型半胱氨酸通过内质网应激和 DNA 去甲基化作用上调 sEH 表达, 导致内皮细胞中 EET 的水平降低, 从而导致内皮激活^[69]。同型半胱氨酸通过内皮细胞中的 DNA 去甲基化作用上调了血小板衍生的生长因子和端粒酶逆转录酶的表达^[70, 71]。运用代谢组学方法, 本研究组更全面地掌握了 DNA 甲基化对类二十烷酸代谢平衡和潜在机制的影响。本研究组进一步发现 DNA 甲基转移酶抑制剂 5-AZA (5-aza-2'-deoxycytidine) 或同型半胱氨酸处理均会提高内皮细胞中 COX 途径代谢产物的水平, 尤其是 PGD₂ 和 TXB₂; PTGDS 和 TBX-AS1 的 DNA 甲基化受到了 5-AZA 调控, 从而导致表达升高^[68]。另一方面, COX 抑制剂可以阻断 5-AZA 诱导的 PGD₂ 和 TXB₂ 水平升高, 进而抑制内皮细胞激活和内皮细胞上单核细胞黏附^[68]。从上述结果可见, 本研究组利用代谢组学阐释了 DNA 去甲基化在类二十烷酸代谢调控中的作用, 并进一步筛选出低甲基化诱导的内皮细胞激活过程中主要代谢产物及其上游通路。该研究进一步提示了异常 DNA 甲基化状态可能通过调控类二十烷酸代谢参与动脉粥样硬化的形成^[68]。

许多与 COX 相关的脂质分子会导致内皮功能障碍, 从而引起高血压^[72]。本研究组研究发现, Ang II 能够诱导内皮细胞中 mTORC1 (mTOR complex 1) 的激活。为了鉴定 mTORC1 介导的与内皮依赖性舒张障碍有关的脂质分子, 本研究组通过 LC-MS/MS 法测量了 Ang II 诱导的高血压小鼠血浆中类二十烷酸的含量, 确定了在内皮细胞特异性敲除 Raptor 的小鼠中, 无论是在基础水平还是在 Ang II 持续灌注的情况下, 与对照组相比, 敲除 Raptor 小鼠的 PGE₂ 含量明显下降。本研究组进一步验证了内皮细胞中 COX-2 和 mPGES-1 (microsomal prostaglandin E synthase-1) 表达的降低是导致 PGE₂ 含量下降的原因。继而, 本研究组发现 YAP-TEAD 复合体在内皮细胞中可以调控 COX-2 和 mPGES-1 表达, 而 Raptor 缺失导致的 YAP 自噬性降解则是降低两者表达的原因^[73]。

3.2 运用类二十烷酸代谢组学研究 n-3 PUFA 在心肌梗死中的保护作用

在全球范围内, 冠状动脉疾病 (coronary artery disease, CAD) 是最常见的死亡原因, 并且其发病率持续增加。越来越多的研究发现 n-3 PUFA, 特别是 EPA 和 DHA 在心血管系统疾病中具有保护作用^[45, 74]。在 REDUCE-IT (reduction of cardiovascular events with icosapent ethyl-intervention trial) 临床研究中, 二十碳五烯酸乙酯可将心血管疾病或糖尿病加其他风险因素的高危患者的心血管事件减少 25%^[75]。然而, 迄今为止混合型鱼油的临床试验没有显示出 REDUCE-IT 中所见的 EPA 对心血管的保护效果, 因此需要深入探究 n-3 PUFA 作用机制。

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 患者血浆中类二十烷酸代谢谱以及 n-3 PUFA 是如何调控类二十烷酸代谢的, 这些问题尚未得到充分解决。因此, 本研究组开展了一项随机对照试验, 试图运用代谢组学方法分析单纯他汀类药物以及他汀类药物合并 n-3 PUFA 治疗的 AMI 患者的类二十烷酸代谢谱的变化^[74]。与单独使用他汀类药物治疗相比, AMI 患者血运重建后 3 个月每天服用 2 g n-3 PUFA 可以显著降低患者血浆中的甘油三酯、载脂蛋白 B 和脂蛋白 a 水平, 这些脂质及载体水平的降低程度与 DHA 和 EPA 代谢产物 EEQ 含量变化的程度相关。n-3 PUFA 处理显著增加了 NO 的产生, 这与 DHA、16,17-EDP、EEQ 和 PGJ₂ 含量的百分比变化相关^[74]。

n-3 PUFA 治疗可通过在 AMI 后的恢复期从全身水平影响类二十烷酸代谢状态来改善脂质代谢和内皮功能。首先,与健康对照组相比,ST 段抬高型心肌梗死 (ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI) 患者花生四烯酸的水平显著升高, EPA 和 DHA 的水平相当^[74]。n-6/n-3 PUFA 比值升高是血栓形成和炎症反应的标志,可进一步导致动脉粥样硬化、肥胖和糖尿病等疾病的发生^[76];其次,与本研究组先前对心肌梗死小鼠的研究相似^[77],AMI 后 n-6 和 n-3 PUFA 发生交替性改变^[74]。两种心脏保护性代谢产物 PGI₂ (确定为其衍生物 6k-PGF_{1α}) 和 15d-PGJ₂ 的含量与其他代谢产物呈负相关^[74]。根据“中间中心性”的概念,与其他代谢物相比,PGJ₂、PGI₂、5-HETE、LTB₄ 和 PGF_{2α} 是应对 STEMI 发生的主要靶标^[74],这些代谢产物在心肌梗死伴随的炎症过程中激活炎症小体,进一步导致炎症因子的释放^[78]。最后,在 n-3 PUFA 干预后,患者血浆中 DHA 的含量增加,而花生四烯酸和 EPA 的含量不变^[74]。与基线水平相比,在含量明显变化的 13 种代谢物中,促炎症脂质分子 PGJ₂ 和 LTB₄ 的含量连续 3 个月下降,而 EEQ 和 EDP 的水平持续提高^[74]。EEQ 和 EDP 这些 n-3 环氧代谢产物比其花生四烯酸衍生的 EET 更有效地激发抗炎和心脏保护作用^[79]。通过代谢组学综合分析类二十烷酸的网络调控可以为临床用药和预后评估提供更为全面的信息,进一步为临床医生使用 n-3 PUFA 进行个体化治疗及精准医学提供思路及依据。

4 未来研究展望

花生四烯酸和 n-3 PUFA 在体内以磷脂形式结合于细胞膜上,结合的花生四烯酸、DHA 和 EPA 在特定刺激下释放至细胞浆中,被代谢形成不同的具有较强生物活性的类二十烷酸代谢产物。早在 20 世纪初期,人们就发现并认识到花生四烯酸是前列腺素的前体,与多种生理和病理过程相关。随着研究的不断进步,人们对花生四烯酸代谢及其作用复杂性和重要性的认识有了长足的进步,但单纯基因组或蛋白质组研究无法全面认识它们在不同生理和病理状态下的变化。随着后基因组时代的到来,兴起的代谢组学技术使系统地阐明这些脂质小分子的结构、功能、与其它分子间的相互作用和关系以及在整个细胞或器官中的网络调节作用成为可能。代谢组学通过对疾病进程中代谢状态的监测以及不同

组织细胞在疾病过程中的代谢变化进行定量检测和分析,能够更精确地揭示类二十烷酸代谢的时空规律。利用网络分析和计算生物学分析能够确定病理生理学过程中的类二十烷酸关键代谢节点,使系统分析类二十烷酸代谢状态变化成为可能。此外,代谢组学在大规模临床样本中的应用,为筛选疾病过程中生物标志物以及明确疾病预后提供必要的技术手段,有望在阐明类二十烷酸代谢引起代谢性心血管疾病研究方面实现新突破。

参考文献

- 1 Dennis EA, Norris PC. Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2015; 15(8): 511–523.
- 2 Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* 2001; 294(5548): 1871–1875.
- 3 Calder PC. Eicosanoids. *Essays Biochem* 2020; 64(3): 423–441.
- 4 Sonnweber T, Pizzini A, Nairz M, Weiss G, Tancevski I. Arachidonic acid metabolites in cardiovascular and metabolic diseases. *Int J Mol Sci* 2018; 19(11): 3285.
- 5 Ishimoto T, Akiba S, Sato T, Fujii T. Contribution of phospholipases A2 and D to arachidonic acid liberation and prostaglandin D2 formation with increase in intracellular Ca²⁺ concentration in rat peritoneal mast cells. *Eur J Biochem* 1994; 219(1–2): 401–406.
- 6 Kano M. Control of synaptic function by endocannabinoid-mediated retrograde signaling. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2014; 90(7): 235–250.
- 7 Norris PC, Dennis EA. Omega-3 fatty acids cause dramatic changes in TLR4 and purinergic eicosanoid signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(22): 8517–8522.
- 8 Miki Y, Yamamoto K, Taketomi Y, Sato H, Shimo K, Kobayashi T, Ishikawa Y, Ishii T, Nakanishi H, Ikeda K, Taguchi R, Kabashima K, Arita M, Arai H, Lambeau G, Bollinger JM, Hara S, Gelb MH, Murakami M. Lymphoid tissue phospholipase A2 group IID resolves contact hypersensitivity by driving antiinflammatory lipid mediators. *J Exp Med* 2013; 210(6): 1217–1234.
- 9 Moon SH, Jenkins CM, Mancuso DJ, Turk J, Gross RW. Smooth muscle cell arachidonic acid release, migration, and proliferation are markedly attenuated in mice null for calcium-independent phospholipase A2beta. *J Biol Chem* 2008; 283(49): 33975–33987.
- 10 Fitzpatrick FA, Soberman R. Regulated formation of eicosanoids. *J Clin Invest* 2001; 107(11): 1347–1351.
- 11 Zhao YJ (赵银娇), Yao L, Zhang X, Zhu Y. Atherosclerosis protection mechanism of omega-3 polyunsaturated fatty acid

- metabolites. *Chin J Arterioscler (中国动脉硬化杂志)* 2020; 28(6): 461–467 (in Chinese).
- 12 Mitchell JA, Kirkby NS. Eicosanoids, prostacyclin and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol* 2019; 176(8): 1038–1050.
- 13 Smith WL, DeWitt DL, Garavito RM. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 145–182.
- 14 Taketomi Y, Ueno N, Kojima T, Sato H, Murase R, Yamamoto K, Tanaka S, Sakanaka M, Nakamura M, Nishito Y, Kawana M, Kambe N, Ikeda K, Taguchi R, Nakamizo S, Kabashima K, Gelb MH, Arita M, Yokomizo T, Nakamura M, Watanabe K, Hirai H, Nakamura M, Okayama Y, Ra C, Aritake K, Urade Y, Morimoto K, Sugimoto Y, Shimizu T, Narumiya S, Hara S, Murakami M. Mast cell maturation is driven via a group III phospholipase A2-prostaglandin D2-DP1 receptor paracrine axis. *Nat Immunol* 2013; 14(6): 554–563.
- 15 Cogolludo A, Moreno L, Bosca L, Tamargo J, Perez-Vizcaino F. Thromboxane A2-induced inhibition of voltage-gated K⁺ channels and pulmonary vasoconstriction: role of protein kinase C ζ . *Circ Res* 2003; 93(7): 656–663.
- 16 Minami T, Nakano H, Kobayashi T, Sugimoto Y, Ushikubi F, Ichikawa A, Narumiya S, Ito S. Characterization of EP receptor subtypes responsible for prostaglandin E₂-induced pain responses by use of EP₁ and EP₃ receptor knockout mice. *Br J Pharmacol* 2001; 133(3): 438–444.
- 17 Murata T, Ushikubi F, Matsuoka T, Hirata M, Yamasaki A, Sugimoto Y, Ichikawa A, Aze Y, Tanaka T, Yoshida N, Ueno A, Oh-ishi S, Narumiya S. Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature* 1997; 388(6643): 678–682.
- 18 Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31(5): 986–1000.
- 19 Takayama K, Yuhki K, Ono K, Fujino T, Hara A, Yamada T, Kuriyama S, Karibe H, Okada Y, Takahata O, Taniguchi T, Iijima T, Iwasaki H, Narumiya S, Ushikubi F. Thromboxane A2 and prostaglandin F2 α mediate inflammatory tachycardia. *Nat Med* 2005; 11(5): 562–566.
- 20 Breyer MD, Breyer RM. G protein-coupled prostanoid receptors and the kidney. *Annu Rev Physiol* 2001; 63: 579–605.
- 21 Alexander CL, Miller SJ, Abel SR. Prostaglandin analog treatment of glaucoma and ocular hypertension. *Ann Pharmacother* 2002; 36(3): 504–511.
- 22 Peng L, Sun B, Liu M, Huang J, Liu Y, Xie Z, He J, Chen L, Wang D, Zhu Y, Zhang X, Ai D. Plasma metabolic profile reveals PGF2 α protecting against non-proliferative diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 496(4): 1276–1283.
- 23 Sugimoto Y, Yamasaki A, Segi E, Tsuboi K, Aze Y, Nishimura T, Oida H, Yoshida N, Tanaka T, Katsuyama M, Hasumoto K, Murata T, Hirata M, Ushikubi F, Negishi M, Ichikawa A, Narumiya S. Failure of parturition in mice lacking the prostaglandin F receptor. *Science* 1997; 277(5326): 681–683.
- 24 Oga T, Matsuoka T, Yao C, Nonomura K, Kitaoka S, Sakata D, Kita Y, Tanizawa K, Taguchi Y, Chin K, Mishima M, Shimizu T, Narumiya S. Prostaglandin F(2 α) receptor signaling facilitates bleomycin-induced pulmonary fibrosis independently of transforming growth factor- β . *Nat Med* 2009; 15(12): 1426–1430.
- 25 Helmersson J, Vessby B, Larsson A, Basu S. Association of type 2 diabetes with cyclooxygenase-mediated inflammation and oxidative stress in an elderly population. *Circulation* 2004; 109(14): 1729–1734.
- 26 Helmersson J, Larsson A, Vessby B, Basu S. Active smoking and a history of smoking are associated with enhanced prostaglandin F(2 α), interleukin-6 and F2-isoprostane formation in elderly men. *Atherosclerosis* 2005; 181(1): 201–207.
- 27 Yu Y, Lucitt MB, Stubbe J, Cheng Y, Friis UG, Hansen PB, Jensen BL, Smyth EM, FitzGerald GA. Prostaglandin F2 α elevates blood pressure and promotes atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(19): 7985–7990.
- 28 Kuhn H, Banthiya S, van Leyen K. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1851(4): 308–330.
- 29 Krieg P, Furstenberger G. The role of lipoxygenases in epidermis. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1841(3): 390–400.
- 30 Barden AE, Mas E, Mori TA. n-3 Fatty acid supplementation and proresolving mediators of inflammation. *Curr Opin Lipidol* 2016; 27(1): 26–32.
- 31 Romano M, Cianci E, Simiele F, Recchiuti A. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation. *Eur J Pharmacol* 2015; 760: 49–63.
- 32 Haeggstrom JZ. Leukotriene biosynthetic enzymes as therapeutic targets. *J Clin Invest* 2018; 128(7): 2680–2690.
- 33 Yao L, Wang C, Zhang X, Peng L, Liu W, Zhang X, Liu Y, He J, Jiang C, Ai D, Zhu Y. Hyperhomocysteinemia activates the aryl hydrocarbon receptor/CD36 pathway to promote hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 2016; 64(1): 92–105.
- 34 Williams JM, Murphy S, Burke M, Roman RJ. 20-hydroxyeicosatetraenoic acid: a new target for the treatment of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010; 56(4): 336–344.
- 35 Lange A, Gebremedhin D, Narayanan J, Harder D. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid-induced vasoconstriction and inhibition of potassium current in cerebral vascular smooth muscle is dependent on activation of protein kinase C. *J Biol Chem* 1997; 272(43): 27345–27352.

- 36 Ward NC, Rivera J, Hodgson J, Puddey IB, Beilin LJ, Falck JR, Croft KD. Urinary 20-hydroxyeicosatetraenoic acid is associated with endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2004; 110(4): 438–443.
- 37 Liu JY, Li N, Yang J, Li N, Qiu H, Ai D, Chiamvimonvat N, Zhu Y, Hammock BD. Metabolic profiling of murine plasma reveals an unexpected biomarker in rofecoxib-mediated cardiovascular events. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(39): 17017–17022.
- 38 Hill E, Fitzpatrick F, Murphy RC. Biological activity and metabolism of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid in the human platelet. *Br J Pharmacol* 1992; 106(2): 267–274.
- 39 Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev* 2002; 82(1): 131–185.
- 40 Wang J, Li H, He J, Li B, Bao Q, Zhang X, Lv Z, Zhang Y, Han J, Ai D, Zhu Y. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid involved in endothelial activation and thrombosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2015; 308(11): H1359–H1367.
- 41 He J, Wang C, Zhu Y, Ai D. Soluble epoxide hydrolase: A potential target for metabolic diseases. *J Diabetes* 2016; 8(3): 305–313.
- 42 Imig JD, Jankiewicz WK, Khan AH. Epoxy fatty acids: from salt regulation to kidney and cardiovascular therapeutics: 2019 Lewis K. Dahl Memorial Lecture. *Hypertension* 2020; 76(1): 3–15.
- 43 Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ 2nd. A series of prostaglandin F₂-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(23): 9383–9387.
- 44 Trostchansky A, Bonilla L, Thomas CP, O'Donnell VB, Marnett LJ, Radi R, Rubbo H. Nitroarachidonic acid, a novel peroxidase inhibitor of prostaglandin endoperoxide H synthases 1 and 2. *J Biol Chem* 2011; 286(15): 12891–12900.
- 45 Mason RP, Libby P, Bhatt DL. Emerging mechanisms of cardiovascular protection for the omega-3 fatty acid eicosapentaenoic acid. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2020; 40(5): 1135–1147.
- 46 Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* 2014; 510(7503): 92–101.
- 47 Wang C, Liu W, Yao L, Zhang X, Zhang X, Ye C, Jiang H, He J, Zhu Y, Ai D. Hydroxyeicosapentaenoic acids and epoxyeicosatetraenoic acids attenuate early occurrence of nonalcoholic fatty liver disease. *Br J Pharmacol* 2017; 174(14): 2358–2372.
- 48 Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005; 6(12): 1191–1197.
- 49 Fredman G, Tabas I. Boosting inflammation resolution in atherosclerosis: The next frontier for therapy. *Am J Pathol* 2017; 187(6): 1211–1221.
- 50 Serhan CN, Levy BD. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest* 2018; 128(7): 2657–2669.
- 51 Endo J, Sano M, Isobe Y, Fukuda K, Kang JX, Arai H, Arita M. 18-HEPE, an n-3 fatty acid metabolite released by macrophages, prevents pressure overload-induced maladaptive cardiac remodeling. *J Exp Med* 2014; 211(8): 1673–1687.
- 52 Pal A, Al-Shaer AE, Guesdon W, Torres MJ, Armstrong M, Quinn K, Davis T, Reisdorph N, Neuffer PD, Spangenburg EE, Carroll I, Bazinet RP, Halade GV, Claria J, Shaikh SR. Resolvin E1 derived from eicosapentaenoic acid prevents hyperinsulinemia and hyperglycemia in a host genetic manner. *FASEB J* 2020; 34(8):10640–10656.
- 53 Artiach G, Carracedo M, Plunde O, Wheelock CE, Thul S, Sjovald P, Franco-Cereceda A, Laguna-Fernandez A, Arnardottir H, Back M. Omega-3 polyunsaturated fatty acids decrease aortic valve disease through the resolvin E1 and ChemR23 axis. *Circulation* 2020; 142(8): 776–789.
- 54 Cherpokova D, Jouvencé CC, Libreros S, DeRoo EP, Chu L, de la Rosa X, Norris PC, Wagner DD, Serhan CN. Resolvin D4 attenuates the severity of pathological thrombosis in mice. *Blood* 2019; 134(17): 1458–1468.
- 55 Serhan CN, Dalli J, Colas RA, Winkler JW, Chiang N. Protectins and maresins: New pro-resolving families of mediators in acute inflammation and resolution bioactive metabolome. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1851(4): 397–413.
- 56 Asatryan A, Bazan NG. Molecular mechanisms of signaling via the docosanoid neuroprotectin D1 for cellular homeostasis and neuroprotection. *J Biol Chem* 2017; 292(30): 12390–12397.
- 57 Dalli J, Zhu M, Vlasenko NA, Deng B, Haeggstrom JZ, Petasis NA, Serhan CN. The novel 13S,14S-epoxy-maresin is converted by human macrophages to maresin 1 (MaR1), inhibits leukotriene A4 hydrolase (LTA4H), and shifts macrophage phenotype. *FASEB J* 2013; 27(7): 2573–2583.
- 58 Serhan CN, Dalli J, Karamnov S, Choi A, Park CK, Xu ZZ, Ji RR, Zhu M, Petasis NA. Macrophage proresolving mediator maresin 1 stimulates tissue regeneration and controls pain. *FASEB J* 2012; 26(4): 1755–1765.
- 59 Bao Q, Liu Y, Song H, Yang N, Ai D, Zhu Y, Zhang X. Spectrum evaluation-assisted eicosanoid metabolomics for global eicosanoid profiling in human vascular endothelial cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2018; 45(1): 98–108.
- 60 Martin-Venegas R, Jauregui O, Moreno JJ. Liquid chroma-

- tography-tandem mass spectrometry analysis of eicosanoids and related compounds in cell models. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014; 964: 41–49.
- 61 Wenk MR. The emerging field of lipidomics. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4(7): 594–610.
- 62 Zhang X, Yang N, Ai D, Zhu Y. Systematic metabolomic analysis of eicosanoids after omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation by a highly specific liquid chromatography-tandem mass spectrometry-based method. *J Proteome Res* 2015; 14(4): 1843–1853.
- 63 Kutzner L, Rund KM, Ostermann AI, Hartung NM, Galano JM, Balas L, Durand T, Balzer MS, David S, Schebb NH. Development of an optimized LC-MS method for the detection of specialized pro-resolving mediators in biological samples. *Front Pharmacol* 2019; 10: 169.
- 64 Yuan ZX, Majchrzak-Hong S, Keyes GS, Iadarola MJ, Mannes AJ, Ramsden CE. Lipidomic profiling of targeted oxylipins with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2018; 410(23): 6009–6029.
- 65 Zhang G, Kodani S, Hammock BD. Stabilized epoxygenated fatty acids regulate inflammation, pain, angiogenesis and cancer. *Prog Lipid Res* 2014; 53: 108–123.
- 66 Liu Y, Fang X, Zhang X, Huang J, He J, Peng L, Ye C, Wang Y, Xue F, Ai D, Li D, Zhu Y. Metabolic profiling of murine plasma reveals eicosapentaenoic acid metabolites protecting against endothelial activation and atherosclerosis. *Br J Pharmacol* 2018; 175(8): 1190–1204.
- 67 Aavik E, Lumivuori H, Leppanen O, Wirth T, Hakkinen SK, Brasen JH, Beschorner U, Zeller T, Braspenning M, van Criekinge W, Makinen K, Yla-Herttuala S. Global DNA methylation analysis of human atherosclerotic plaques reveals extensive genomic hypomethylation and reactivation at imprinted locus 14q32 involving induction of a miRNA cluster. *Eur Heart J* 2015; 36(16): 993–1000.
- 68 Xue SS, He JL, Zhang X, Liu YJ, Xue FX, Wang CJ, Ai D, Zhu Y. Metabolomic analysis revealed the role of DNA methylation in the balance of arachidonic acid metabolism and endothelial activation. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1851(10): 1317–1326.
- 69 Zhang D, Xie X, Chen Y, Hammock BD, Kong W, Zhu Y. Homocysteine upregulates soluble epoxide hydrolase in vascular endothelium *in vitro* and *in vivo*. *Circ Res* 2012; 110(6): 808–817.
- 70 Zhang D, Chen Y, Xie X, Liu J, Wang Q, Kong W, Zhu Y. Homocysteine activates vascular smooth muscle cells by DNA demethylation of platelet-derived growth factor in endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 53(4): 487–496.
- 71 Zhang D, Sun X, Liu J, Xie X, Cui W, Zhu Y. Homocysteine accelerates senescence of endothelial cells via DNA hypomethylation of human telomerase reverse transcriptase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35(1): 71–78.
- 72 Matsumoto T, Goulopoulou S, Taguchi K, Tostes RC, Kobayashi T. Constrictor prostanoids and uridine adenosine tetraphosphate: vascular mediators and therapeutic targets in hypertension and diabetes. *Br J Pharmacol* 2015; 172(16): 3980–4001.
- 73 Yao L, He J, Li B, Yan M, Wang H, Tan L, Liu M, Lv X, Lv H, Zhang X, Chen C, Wang D, Yu Y, Huang Y, Zhu Y, Ai D. Regulation of YAP by mammalian target of rapamycin complex 1 in endothelial cells controls blood pressure through COX-2/mPGES-1/PGE2 cascade. *Hypertension* 2019; 74(4): 936–946.
- 74 Yuan M, Zhang Y, Hua T, Liu XL, Liu T, Yuan RY, Li GP, Zhu Y, Zhang X. Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation improves lipid metabolism and endothelial function by providing a beneficial eicosanoid-pattern in patients with acute myocardial infarction: A randomized, controlled trial. *Clin Nutr* 2021; 40(2): 445–459.
- 75 Bhatt DL. REDUCE-IT. *Eur Heart J* 2019; 40(15): 1174–1175.
- 76 Simopoulos AP. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients* 2016; 8(3): 128.
- 77 Fang X, Cai W, Cheng Q, Ai D, Wang X, Hammock BD, Zhu Y, Zhang X. Omega-3 PUFA attenuate mice myocardial infarction injury by emerging a protective eicosanoid pattern. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2018; 139: 1–9.
- 78 Marchant DJ, Boyd JH, Lin DC, Granville DJ, Garmaroudi FS, McManus BM. Inflammation in myocardial diseases. *Circ Res* 2012; 110(1): 126–144.
- 79 Fischer R, Konkel A, Mehling H, Blossey K, Gapelyuk A, Wessel N, von Schacky C, Dechend R, Muller DN, Rothe M, Luft FC, Weylandt K, Schunck WH. Dietary omega-3 fatty acids modulate the eicosanoid profile in man primarily via the CYP-epoxygenase pathway. *J Lipid Res* 2014; 55(6): 1150–1164.