

基于代谢组学技术观察高压氧联合清开灵治疗对脑外伤后意识障碍患者代谢标志物的影响

冯娟娟¹ 孙志² 薛连平² 李文婷¹ 刘阳阳¹ 张洁³

¹郑州大学第一附属医院康复医学科, 郑州 450000; ²郑州大学第一附属医院药学部, 郑州 450000; ³郑州大学第一附属医院高压氧治疗中心, 郑州 450000

通信作者: 张洁, Email: pzf192@126.com

【摘要】 目的 通过代谢组学技术分析脑外伤致意识障碍患者经高压氧联合清开灵治疗前、后其代谢标志物的变化, 筛选出诊断标志物并用于指导临床诊疗及预后评估。**方法** 选取 36 例脑外伤致意识障碍患者纳入观察组, 同时选取性别、年龄、族别与患者匹配的 40 例健康体检者纳入对照组。入选后观察组患者在常规支持性治疗基础上辅以高压氧及清开灵药物干预, 于治疗前、治疗 14 d 后采用格拉斯哥昏迷量表 (GCS) 评估患者意识障碍程度; 同时采集观察组治疗前、后及对照组静脉血, 采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 技术对各组对象血清样本进行代谢组学分析, 筛选出观察组与对照组间有显著差异的特异代谢标志物。通过绘制受试者工作曲线 (ROC), 找出与疾病相关且具有诊断意义的代谢标志物, 并观察上述诊断标志物在治疗前、后的变化情况。**结果** 治疗后观察组患者 GCS 评分 [(11.08±1.89) 分] 较治疗前 [(9.83±1.89) 分] 显著升高 ($P<0.05$), 昏迷程度明显改善。治疗前与对照组比较, 发现观察组共有 21 个潜在代谢标志物有显著差异, 其中 ROC 曲线下面积 (AUC) > 0.85 且具有较高诊断价值的代谢标志物共有 8 个 (分别是肌酸、脯氨酸、尿酸、乙酰-L-肉碱、组氨酸、脯氨酸亮氨酸、色氨酸及 9E-十八碳烯酸), 经治疗后上述代谢标志物均发生明显回调并趋于健康对照组水平。AUC 更接近于 1 的诊断标志物共有 4 个 (分别是脯氨酸亮氨酸、9E-十八碳烯酸、尿酸及乙酰-L-肉碱), 可用于脑外伤致意识障碍患者的辅助诊断及疗效评估。**结论** 高压氧联合清开灵治疗能改善脑外伤致意识障碍患者的昏迷程度, 纠正患者体内代谢紊乱, 加速患者促醒。代谢组学筛选技术为识别脑外伤后意识障碍患者内源性代谢异常、指导临床诊疗及预后评估提供了一种新的手段。

【关键词】 高压氧; 代谢组学; 脑外伤; 意识障碍; 代谢标志物

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目 (20A320030); 河南省中医药科学研究专项课题 (2023ZY3038); 河南省科技厅科技攻关项目 (242102310192)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2024.05.011

The effects of combining hyperbaric oxygen with qingkailing on metabolic markers after traumatic brain injury

Feng Juanjuan¹, Sun Zhi², Xue Lianping², Li Wengting¹, Liu Yangyang¹, Zhang Jie³

¹Department of Rehabilitation, The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China;

²Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China;

³Hyperbaric Oxygen Therapy Center, The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

Corresponding author: Zhang Jie, Email: pzf192@126.com

【Abstract】 Objective To analyze any effect of combining hyperbaric oxygen with qingkailing on the metabolic biomarkers of consciousness disorder (CD) caused by brain trauma using metabolomics technology. Also, to screen out diagnostic markers for clinical treatment and prognosis. **Methods** Thirty-six patients with a CD caused by brain trauma formed the observation group, while 40 healthy gender-, age- and ethnicity-matched individuals were the control group. Both groups were given routine supportive treatment, while the observation group additionally received hyperbaric oxygen and oral qingkailing medication. Before and after 14 days consciousness disturbance was evaluated using the Glasgow Coma Scale (GCS). Venous blood was collected for metabolomic analysis using liquid chromatography linked to a mass spectrometer to screen out specific metabolic biomarkers. Metabolic markers associated with the disease and of diagnostic significance were thus identified. **Results** After the treatment the average GCS score of the observation group had improved significantly and the degree of coma was significantly relieved. Twenty-one metabolic markers were found to be significant, with creatine, proline, uric acid, acetyl-L-carnitine, histidine,

proline leucine, tryptophan and 9E-octagenoic acid potentially of high diagnostic value. After the treatment, all of those markers came close to the levels observed in the healthy control group. **Conclusions** Proline, leucine, 9E-octagenoic acid, uric acid and acetyl-L-carnitine could be used for diagnosis and evaluating efficacy with such patients. Hyperbaric oxygen supplemented with qingkailing can relieve coma, correct metabolic disorders and accelerate patients' awakening. Metabolomics provides a new method for identifying endogenous metabolic abnormalities in patients with post-traumatic consciousness disorders. It can be useful in prognosis and clinical treatment.

【Key words】 Hyperbaric oxygen; Serum metabolomics; Brain trauma; Consciousness; Metabolomics; Biomarkers

Funding: A Key Scientific Research Project of Henan University (20A320030); a Henan Province Chinese medicine scientific research special topic (2023ZY3038); a Science and Technology Research Project of Henan's Provincial Science and Technology Department (242102310192)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2024.05.011

近年来高压氧已成为一种很重要的促醒手段,对重度颅脑损伤后长时间昏迷不醒的患者具有明显促醒作用^[1-2]。清开灵注射液是临床上广泛用于治疗脑损伤致意识障碍患者的中成药,其主要成分包括胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、桅子、水牛角、板蓝根、黄芩苷、金银花等,遵照“君、臣、佐、使”的配伍原则共奏清热解毒、化痰通络、醒神开窍等功效。有研究报道清开灵注射液能维持机体血脑屏障功能及神经元结构完整性,减轻氧化应激损伤,抑制炎症因子释放及神经元死亡,促进神经营养因子表达^[3],还有学者观察到清开灵注射液能显著缩短高血压脑出血患者术后高热、昏迷的持续时间,有助于改善患者预后^[4]。

目前关于高压氧联合清开灵治疗脑外伤后意识障碍患者的临床研究鲜见报道,且相关分子作用机制亦未明确,不利于其推广、应用。近年来代谢组学、脂质组学等新技术被视为诊断疾病及发现预后相关生物标志物的重要前沿技术。基于此,本研究通过超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱(简称UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)代谢组学技术,从代谢层面分析脑外伤后意识障碍患者经高压氧联合清开灵治疗前、后其代谢生物谱变化,探讨患者在疾病不同状态时其生物标志物的转归特征,为该类疾病的诊断、疗效评估及治疗机制(代谢层面)探讨等提供新手段、新方法。

对象与方法

一、主要仪器及试剂

本研究主要仪器包括 Ultimate 3000 型超高效液

相色谱系统(Dionex 公司,美国)、串联 Q-Exactive 四级杆-静电场轨道阱高分辨率质谱仪(Thermo Fisher Scientific 公司,美国)、Heraeus Fresco 17 型离心机(Thermo Fisher Scientific 公司,美国)、VORTEX-GENIE 涡旋仪(Scientific Industries 公司,美国)及十万分之一分析天平(Thermo Fisher Scientific 公司,美国)等;主要试剂包括 2-氯-L-苯丙氨酸标准品(购于 J&K Chemical 公司,中国)、酮洛芬标准品(购于 Sigma Aldrich 公司,美国)、甲醇、HPLC 级乙腈(均购于 Thermo Fisher 公司,美国)及 HPLC 级甲酸(购于 Sigma Aldrich 公司,美国)等。

二、研究对象及分组

本研究经郑州大学第一附属医院伦理学委员会审批(2022-KY-1414-004)。患者纳入标准包括:①经颅脑 CT、临床症状检查及格拉斯哥昏迷量表(Glasgow coma scale, GCS)评估^[5],确诊为脑外伤致意识障碍;②患者年龄 18~65 岁;③患者对本研究知晓并自愿参与,均签署知情同意书。患者排除标准包括:①有肿瘤病史;②处于孕期或哺乳期;③患有代谢性疾病,如糖尿病、高尿酸血症、高脂血症等;④心、肝、肺、肾等重要脏器功能异常;⑤近期曾使用过特殊药物治疗,如抗精神病类药物、抗生素、激素、非甾体抗炎药等;⑥在最近 3 周内曾接受过放疗、化疗或靶向治疗等;⑦既往有精神病史或家族性精神病史等。

选取 2023 年 1 月至 2023 年 8 月期间就诊于本院的 36 例脑外伤后意识障碍患者并纳入观察组,同时选取性别、年龄、族别与患者组匹配的 40 例健康体检者纳入对照组。2 组对象一般资料情况详见表 1。

表 1 入选时 2 组对象一般资料情况比较

组别	例数	性别		年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	族别		病程 (d, $\bar{x}\pm s$)	GCS 评分(分, $\bar{x}\pm s$)		脑外伤程度	
		男	女		汉	其他		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	36	20	16	47.5±13.3	36	0	19.7±5.4	9.83±1.89	11.08±1.89 ^a	中度	轻度
对照组	40	21	19	47.0±12.6	40	0	-	15	15	-	-

注:与组内治疗前比较,^a $P<0.05$

三、治疗方法

观察组患者均常规给予支持性治疗,包括营养支持、维持生命体征稳定及对症治疗等,同时在此基础上辅以高压氧治疗及清开灵药物注射。高压氧治疗方案如下:选用烟台产医用 Y3200J-X 型高压氧舱,加压时间 20 min,使舱内压力稳定在 2.0 个绝对大气压(absolute atmosphere, ATA)水平,在稳压状态下患者保持坐位或卧位戴面罩吸纯氧 30 min,休息 5 min 后继续吸纯氧 30 min,减压时间 15 min,待舱内压力匀速减至常压后患者出舱,总治疗时间为 100 min,每天治疗 1 次,治疗 14 d 为 1 个疗程。在高压氧治疗期间辅以清开灵药物(河南省神农药业有限公司出品,国药准字 Z41020323)注射,每次将 20 ml 清开灵注射液注入到 250 ml 生理盐水中静脉滴注,每天治疗 1 次,治疗 14 d 为 1 个疗程。

四、疗效评定及生物标志物筛选

于入选时、治疗 14 d 后分别采用 GCS 量表对观察组患者昏迷程度进行评定,该量表评定内容包括睁眼反应、言语反应及运动反应共 3 个维度,睁眼反应计分标准如下:能自主睁眼计 4 分,听到言语刺激睁眼计 3 分,感受疼痛刺激睁眼计 2 分,不睁眼计 1 分;言语反应计分标准如下:能正常交谈计 5 分,言语错乱计 4 分,只能说简短语句计 3 分,只能发音计 2 分,无法发音计 1 分;运动反应计分标准如下:能按指令运动计 6 分,疼痛刺激时可感知定位计 5 分,有逃避动作计 4 分,有肢体屈曲动作计 3 分,有过伸反应计 2 分,无反应计 1 分。GCS 量表满分为 15 分,如患者得分 15 分表示意识正常,12~14 分表示轻度昏迷,9~11 分表示中度昏迷,<8 分表示重度昏迷,4~7 分提示患者预后极差,3 分及以下提示患者无法存活^[5]。

本研究同时采用受试者工作曲线(receiver operator characteristic, ROC)评价患者各潜在生物标志物的诊断识别能力,当 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)大于 0.5 时被认为具有诊断价值;AUC 为 0.5~0.7 时提示诊断准确性较低,0.7~0.9 时则具有较好的准确性,大于 0.9 时则提示具有极高的准确性,越接近 1 则表示该标志物的诊断效能越好。

五、样本制备及质谱检测

分别采集治疗前、治疗 14 d 后观察组及对照组静脉血 2 ml 并置入-80℃冰箱中备用。取 100 μl 解冻后的血清样本,于冰面上向血清样本注入 300 μl 含内标甲醇溶液,涡旋震荡 5 min,经离心后取上清液并注入自动进样小瓶中进行色谱分离及质谱检测。将 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 平台反馈的数据导入 Compound Discoverer 3.0 软件进行前处理,计算各

代谢产物的变量投影重要度值(variable importance in projection, VIP),按照 VIP 值>1、 $P<0.05$ 标准筛选有统计学差异的代谢物,并与人类代谢组学数据库(human metabolome database, HMDB)进行比对,同时确认是内源性代谢物。

六、数据处理及统计学分析

本研究采用 SPSS 26.0 版统计学软件包进行数据分析,服从正态分布且方差齐性的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,组内比较采用配对样本 t 检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义;采用 Pearson 检验分析 GCS 评分与各潜在生物标志物变化趋势间的相关性, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义或具有显著相关性。

结 果

治疗前观察组患者 GCS 评分为(9.83 ± 1.89)分,经 14 d 干预后发现患者 GCS 评分[(11.08 ± 1.89)分]较治疗前显著提高($P<0.05$),患者睁眼、言语及运动表现均有明显改善。对观察组治疗前、后及对对照组的血清样本代谢物进行统计比较,发现上述样本间存在显著差异,表明脑外伤致意识障碍患者其血清代谢物在治疗前、后及与健康人间均存在明显差异。

本研究以 VIP 值>1、 P 值<0.05 为筛选条件,发现观察组治疗前共有 21 种潜在生物标志物的表达水平与对照组存在显著差异(详见表 2),其中 7 种表达水平上调,余 14 种表达水平下调,提示上述 21 种生物标志物的表达水平较正常值发生了明显改变,可作为辨识脑外伤后意识障碍的潜在标志物。

本研究筛选出的 21 种生物标志物其 AUC 均大于 0.5,表明这些生物标志物对脑外伤后意识障碍患者均具有一定辨别能力;AUC>0.85 的生物标志物共有 8 种,分别是肌酸、脯氨酸、尿酸、乙酰-L-肉碱、组氨酸、脯氨酸亮氨酸、色氨酸、(9E)-十八碳烯酸,上述标志物对脑外伤后意识障碍患者的辨识能力进一步加强,其中 AUC 最接近于 1 的前 4 个潜在生物标志物依次为脯氨酸亮氨酸、(9E)-十八碳烯酸、尿酸和乙酰-L-肉碱,对脑外伤后意识障碍患者具有很高的识别能力,可作为诊断脑外伤后意识障碍的生物标志物。

通过 ROC 分析发现,治疗前观察组 AUC>0.85 的 8 个潜在生物标志物在治疗后均发生了明显回调,其含量水平均趋于正常值,提示上述生物标志物均可能参与了脑外伤致意识障碍患者的恢复过程,其中脯氨酸亮氨酸、(9E)-十八碳烯酸、尿酸及乙酰-L-肉碱不仅可作为脑外伤致意识障碍患者的诊断标志物,同时还

表 2 观察组治疗前与对照组有显著差异的潜在生物标志物分析

No	代谢标志物	分子式	RT[min]	m/z	VIP 值	P 值	变化趋势	AUC
1	精氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0.778	175.11882	1.81207	0.0006421	↓	0.730
2	肌酸	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	0.834	132.07663	6.1437	1.89E-07	↑	0.858
3	脯氨酸	C ₅ H ₉ NO ₂	0.85	116.07061	8.53401	2.70E-12	↓	0.879
4	木苏碱	C ₇ H ₁₃ NO ₂	0.859	144.10161	2.18607	0.016333	↑	0.781
5	甜菜碱	C ₅ H ₁₁ NO ₂	0.864	118.08621	6.90984	3.86E-05	↓	0.765
6	尿酸	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	0.868	167.0201	13.19	1.01E-12	↓	0.910
7	乙酰-L-肉碱	C ₉ H ₁₇ NO ₄	0.882	204.12256	14.1913	3.63E-08	↑	0.884
8	组氨酸	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	0.891	156.07659	1.92751	9.18E-11	↓	0.874
9	脯氨酸亮氨酸	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	0.891	229.15425	7.12869	8.00E-13	↓	0.957
10	酪氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₃	0.898	182.08093	1.97845	3.79E-05	↓	0.735
11	乳酸	C ₃ H ₆ O ₃	1.037	89.02314	7.69122	0.020054	↑	0.601
12	4-氧代-L-脯氨酸	C ₅ H ₇ NO ₃	1.057	128.03417	1.16979	7.68E-06	↑	0.756
13	异氨己酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1.124	132.10165	11.1559	0.000301	↓	0.729
14	色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	3.52	205.09672	11.5268	2.79E-10	↓	0.882
15	反式-3-吡啶丙烯酸	C ₁₁ H ₉ NO ₂	3.833	188.0702	1.59655	1.58E-08	↓	0.846
16	4-乙酰氨基苯甲酸	C ₉ H ₉ NO ₃	4.144	178.05018	1.12466	2.08E-05	↓	0.776
17	鹅脱氧甘胆酸	C ₂₆ H ₄₃ NO ₅	7.078	448.30694	2.3768	0.0013222	↓	0.690
18	甘氨脱氧胆酸	C ₂₆ H ₄₃ NO ₅	7.238	448.30696	2.26372	0.0001287	↓	0.767
19	油酸炔烃	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	9.856	277.21718	1.85367	8.72E-06	↑	0.798
20	油酸酰胺	C ₁₈ H ₃₅ NO	10.301	282.27816	2.43397	0.015933	↓	0.598
21	(9E)-十八碳烯酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	11.56	283.26398	8.15088	1.87E-16	↑	0.949

可用于疗效评估。另外本研究通过 Pearson 检验发现,干预前、后观察组 AUC>0.85 的 8 个潜在生物标志物的含量变化与患者 GCS 评分变量均无明显相关性 ($P>0.05$),具体数据见表 3。

表 3 观察组各潜在生物标志物与 GCS 评分的相关性分析

NO	潜在生物标志物	AUC	相关系数 <i>r</i> 值	<i>P</i> 值
1	肌酸	0.858	0.075	0.675
2	脯氨酸	0.879	-0.158	0.372
3	尿酸	0.910	-0.157	0.374
4	乙酰-L-肉碱	0.884	-0.176	0.319
5	组氨酸	0.874	0.021	0.905
6	脯氨酸亮氨酸	0.957	0.038	0.832
7	色氨酸	0.882	-0.225	0.200
8	(9E)-十八碳烯酸	0.949	-0.023	0.898

讨 论

由于意识障碍患者的康复难度较大且花费昂贵,通过精准评估意识障碍患者的临床预后,不仅有助于患者家庭明确在后续治疗中的投入力度,也能在一定程度上帮助医疗机构更有效地调配医疗资源,提高医疗效率。冯华等^[6]认为,对于颅脑损伤患者,目前基于头颅 CT/MRI 等宏观影像指标已不能满足临床需求,集合临床病情、神经影像及功能影像、尤其是多种体液生物标记物的多模态监测体系更有助于明确疾病的发生机制。血清代谢组学研究能找出相关代谢标志

物并建立科学的诊断模型,从而揭示疾病的发生、发展机制,有助于对疾病进行快速预测以达到早期干预的目的^[7]。目前代谢组学技术已被广泛应用于与人类健康密切相关的多个领域,如疾病诊断、发病机制研究、药物开发及改进等方面,并取得显著成果^[8]。

本研究通过对脑外伤致意识障碍患者及健康体检者进行非靶向代谢组学分析,经代谢谱分类后发现 2 组对象血清样本中共有 8 种潜在生物标志物(肌酸、脯氨酸、尿酸、乙酰-L-肉碱、组氨酸、脯氨酸亮氨酸、色氨酸、9E-十八碳烯酸)存在明显差异,通过分析上述标志物含量有助于诊断及辨别脑外伤致意识障碍患者。尿酸和肌酐是人体重要的抗氧化剂,具有对抗氧化应激、保护神经、促进神经细胞增殖及神经修复等作用^[9]。本研究显示,观察组患者血清中尿酸水平较健康对照组明显降低,且 ROC 分析显示尿酸是 AUC 最接近于 1 的生物标志物之一,提示尿酸对脑外伤后意识障碍患者具有极高的识别能力,可作为诊断脑外伤后意识障碍患者的生物标志物之一。Zheng 等^[10-11]也发现血清尿酸、肌酐含量与男性颅脑外伤(traumatic brain injury, TBI)患者的病情转归密切相关,通过监测上述标志物含量有助于预测男性 TBI 患者的治疗结局,故联合监测尿酸、肌酐水平对评估脑外伤致意识障碍的严重程度及患者预后具有重要意义。另外本研究观察组患者血清肌酸水平较健康对照组明显升高,与周惠惠等^[12]报道结果不同,具体原因还有待收集更多

样本进一步验证、探讨。

本研究观察组患者经高压氧及清开灵联合治疗后,通过代谢组学分析发现观察组筛选出的 8 种诊断标志物在治疗后均发生了回调,且含量均接近健康人水平,通过绘制 ROC 曲线发现,AUC 趋近于 1 的前 4 个生物标志物(包括脯氨酸亮氨酸、9E-十八碳烯酸、尿酸及乙酰-L-肉碱)对脑外伤致意识障碍患者具有极高的识别能力,并推测高压氧联合清开灵治疗脑外伤后意识障碍的机制可能与调控上述标志物体内代谢有关。He 等^[13]发现 TBI 患者及脑肿瘤手术患者其血清尿酸水平随病情改善呈现下降趋势,且下降幅度与病情改善情况基本一致。本研究观察组患者经治疗后其血清尿酸水平也发生了明显回调,进一步证实血清尿酸可用于辅助诊断脑外伤后意识障碍患者,同时根据其含量变化可评估治疗持续时间及患者结局。后续可考虑对患者进行跟踪随访,将患者临床症状变化、各代谢指标物的回调情况相结合并建立疗效评估模型,为指导临床治疗及预后评估提供新的手段。

本研究观察组患者经治疗后其 GCS 评分较治疗前均显著提高,患者自主动作、追听追视及言语功能等均较治疗前有不同程度改善。通过 Pearson 相关性分析发现,本研究筛选出的 8 种诊断生物标志物(AUC 均>0.85)的含量变化与 GCS 评分变量均无显著相关性($P<0.05$),造成该结果的原因可能包括以下方面:首先是实验中各指标的检测精度存在误差,再加上样本量偏少、GCS 评分(评分为整数)与代谢物含量(精确到小数点后 5 位)的精准程度不匹配、统计学方法待优化等,后续需在改良数据分析基础上开展大样本研究,以进一步验证各生物标志物与 GCS 评分间的相关性。

综上所述,本研究发现脑外伤后意识障碍患者体内存在多种生物标志物代谢异常,高压氧联合清开灵干预有助于纠正患者体内异常代谢,加速患者促醒。针对生物标志物的代谢组学筛选技术为识别脑外伤后意识障碍患者内源性代谢紊乱、指导临床诊疗及预后评估提供了一种新的手段。需要指出的是,本研究还存在诸多问题,如样本量偏小且来源单一、未观察各诊断标志物在治疗过程中的进一步变化趋势、如何将诊断标志物与临床疗效评估有机结合、血清标志物与脑脊液代谢标志物间有何关联等,均需后续研究进一步完善。

参 考 文 献

- [1] Harch PG, Andrews SR, Rowe CJ, et al. Hyperbaric oxygen therapy for mild traumatic brain injury persistent postconcussion syndrome: a randomized controlled trial [J]. *Med Gas Res*, 2020, 10(1): 8-20. DOI: 10.4103/2045-9912.279978.
- [2] Gonzales-Portillo B, Lippert T, Nguyen H, et al. Hyperbaric oxygen therapy: A new look on treating stroke and traumatic brain injury [J]. *Brain Circ*, 2019, 5(3): 101-105. DOI: 10.4103/bc.bc_31_19.
- [3] Ren Z, Chen C, Zheng Y, et al. Refined Qingkailing protects the in vitro neurovascular unit against oxygen-glucose deprivation and re-oxygenation-induced injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115580. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.115580.
- [4] 吕希玉, 孔荣, 王家风. 清开灵治疗高血压脑出血术后高热、昏迷的临床研究 [J]. *北京中医药大学学报(中医临床版)*, 2003, 10(3): 4-6. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2205.2003.03.002.
- [5] Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale [J]. *Lancet*, 1974, 2(7872): 81-84. DOI: 10.1016/s0140-6736(74)91639-0.
- [6] 冯华, 陈渝杰, 黄苏娜. 生物标志物在创伤性颅脑损伤救治中的应用现状及展望 [J]. *中华神经医学杂志*, 2022, 21(1): 2-5. DOI: 10.3760/cma.j.cn115354-20210902-00567.
- [7] Tokarz J, Adamski J, Rizner TL. Metabolomics for diagnosis and prognosis of uterine diseases? a systematic review [J]. *J Pers Med*, 2020, 10(4): 294. DOI: 10.3390/jpm10040294.
- [8] Kennedy AD, Wittmann BM, Evans AM, et al. Metabolomics in the clinic: a review of the shared and unique features of untargeted metabolomics for clinical research and clinical testing [J]. *Mass Spectrom*, 2018, 53(11): 1143-1154. DOI: 10.1002/jms.4292.
- [9] Zhang WL, Chen LL, Lou M. Association of elevated serum uric acid with nerve conduction function and peripheral neuropathy stratified by gender and age in type 2 diabetes patients [J]. *Brain Sci*, 2022, 12(12): 1704. DOI: 10.3390/brainsci12121704.
- [10] Zheng B, Fan J, He R, et al. Antioxidant status of uric acid, bilirubin, albumin and creatinine during the acute phase after traumatic brain injury: sex-specific features [J]. *Int J Neurosci*, 2021, 131(9): 833-842. DOI: 10.1080/00207454.2020.1758697.
- [11] Seifar F, Dinasarapu AR, Jinnah HA. Uric acid in Parkinson's disease: what is the connection? [J]. *Mov Disord*, 2022, 37(11): 2173-2183. DOI: 10.1002/mds.29209.
- [12] 周惠惠, 程桂青, 田璐, 等. 基于 UPLC/LTQ Orbitrap Velos MS 的创伤性脑损伤代谢组学分析 [J]. *临床检验杂志*, 2023, 41(7): 530-536. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2023.07.11.
- [13] He M, Zheng JQ, Liu H, et al. Decreased serum uric acid in patients with traumatic brain injury or after cerebral tumor surgery [J]. *Neurosciences*, 2021, 26(1): 36-44. DOI: 10.17712/nsj.2021.1.20200089.

(修回日期: 2024-03-12)

(本文编辑: 易 浩)