

## 基于代谢组学探索氯胺酮膀胱毒性相关的尿液差异代谢物

吴知桂<sup>1</sup>, 殷文贤<sup>2</sup>, 罗宏丽<sup>1</sup>, 司元楷<sup>1</sup>, 孙梦琦<sup>1</sup>, 廖林川<sup>3\*</sup>

(1. 西南医科大学附属医院药学部, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学附属医院中医院药学部, 四川 泸州 646000; 3. 四川大学华西基础与法医学院, 四川 成都 610041)

**摘要:** 探讨长期给药诱导形成的氯胺酮性膀胱炎差异代谢物变化及可能的毒性机制。本实验以雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠为实验动物, 随机分为对照组、氯胺酮低剂量 (10 mg·kg<sup>-1</sup>) 和氯胺酮高剂量 (50 mg·kg<sup>-1</sup>) 给药组, 腹腔注射给药 12 周, 测定大鼠 2 h 尿频次数, 膀胱质量系数, 采用酶联免疫法测定血清白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 炎症指标。基于气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术分析大鼠尿液代谢物图谱, 运用多元统计模式识别分析。本实验获得西南医科大学动物实验中心伦理委员会批准 (批准号: 201901-98)。结果显示给药 12 周后, 2 h 尿频次数及膀胱质量指数低剂量组和高剂量组与对照组相比具有显著差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  炎症指标及膀胱 HE 染色结果显示, 长期给予氯胺酮会诱导膀胱炎; 根据代谢组学分析在对照组与低剂量组之间的差异代谢物为 2,3-丁二醇、3-氨基异丁酸、柠檬酸、尿酸; 在对照组与高剂量组之间的差异代谢物为 3-氨基异丁酸、戊糖醇、柠檬酸、D-葡萄糖酸、尿酸。本研究表明, 3-氨基异丁酸、柠檬酸和尿酸为共同的差异代谢物, 与对照组比较, 其相对浓度呈增加趋势, 且在高剂量组中, 其浓度增加更加显著, 表明这 3 种差异代谢物可能与氯胺酮性膀胱炎发生发展密切相关。

**关键词:** 氯胺酮; 代谢组学; 膀胱炎; 3-氨基异丁酸; 柠檬酸; 尿酸

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)08-1849-06

## Metabolic abnormalities associated with ketamine-associated bladder toxicity based on metabolomics

WU Zhi-gui<sup>1</sup>, YIN Wen-xian<sup>2</sup>, LUO Hong-li<sup>1</sup>, SI Yuan-kai<sup>1</sup>, SUN Meng-qi<sup>1</sup>, LIAO Lin-chuan<sup>3\*</sup>

(1. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Department of Pharmacy, Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 3. West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** The aim of the present study was to determine the metabolic changes and possible toxic mechanisms of ketamine-associated bladder toxicity. Twenty-four male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly allocated into a control group, a low-dose group and a high-dose group. The behavior of these rats was observed every day. In addition, the weight, 2 h urinary frequency and organ coefficient of the bladder were measured. Serum IL-6 and TNF- $\alpha$  levels were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Urinary metabolites were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). This research was approved by the Ethics Committee of the Animal Experiment Center of Southwest Medical University (No. 201901-98). After 12 weeks of administration, the frequency of 2 h urination and the bladder mass index were significantly different in the low-dose and high-dose groups compared with the control group. Serum IL-6 and TNF- $\alpha$  levels were higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ). Bladder HE staining showed that long-term administration of ketamine could induce

收稿日期: 2020-01-06; 修回日期: 2020-03-16.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81373239); 西南医科大学附属医院博士启动基金 (18104); 西南医科大学校级课题 (00031260).

\*通讯作者 Tel: 86-28-85501636, E-mail: linchuanliao@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-0017

cystitis. The concentrations of the three common differential metabolites, including 3-aminoisobutyric acid, citric acid and uric acid in the low-dose and the high-dose groups were increased compared with those in the control group. This study indicates that 3-aminoisobutyric acid, citric acid and uric acid and their related metabolic pathways may be closely related to ketamine-associated bladder toxicity.

**Key words:** ketamine; metabolomics; bladder toxicity; 3-aminoisobutyric acid; citric acid; uric acid

氯胺酮 (ketamine) 为苯环己哌啶的衍生物, 属 NMDA (*N*-甲基-*D*-天门冬氨酸) 非竞争性受体拮抗剂, 随着对氯胺酮的深入研究, 发现其是临床唯一具有镇静、镇痛和麻醉等多项药效于一体的静脉麻醉药物<sup>[1]</sup>, 近年来, 小剂量氯胺酮的抗抑郁<sup>[2-4]</sup>、脑保护<sup>[5]</sup>等其他作用也突显出来。同时, 氯胺酮具有一定的致幻作用和成瘾性, 也被滥用于各种娱乐场所。近几年来, 非法滥用氯胺酮的人数呈现快速增长趋势<sup>[6]</sup>。在氯胺酮的应用越来越广泛的同时, 使用人群越来越多, 其毒副作用也越来越受到人们的高度关注。

2007年, Shahani等<sup>[7]</sup>首次报道了长期吸食氯胺酮可引起泌尿系统损伤, 特别是对膀胱的影响, 并将其称之为“氯胺酮相关性膀胱炎”。此后, 氯胺酮引起的膀胱炎逐渐引起人们的重视<sup>[8,9]</sup>。氯胺酮性膀胱炎的主要临床表现为尿潴留、尿失禁、血尿、膀胱壁增厚、膀胱容量降低等尿道下段症状。虽然已有研究证实氯胺酮可引起泌尿系统损伤, 但其研究仍处于探索阶段, 涉及以下方面: 氯胺酮及其代谢产物去甲氯胺酮的直接毒性作用损伤膀胱屏障功能障碍<sup>[10,11]</sup>; 氯胺酮可以通过线粒体及内质网相关通路增强膀胱氧化应激作用, 从而引起膀胱细胞凋亡及泌尿道上皮屏障破坏细胞凋亡<sup>[12]</sup>; 以及相关的炎症介质等<sup>[13,14]</sup>。代谢组学是一种研究内源性代谢产物的系统方法。该方法不仅可以诊断和监测疾病, 而且可以通过识别与疾病相关的特殊代谢产物和代谢途径, 为探索机制提供新的思路。前期对 Sprague-Dawley (SD) 大鼠尿液代谢组学进行了研究, 发现短期使用氯胺酮后, 部分代谢物发生了显著变化<sup>[15]</sup>。本研究采用代谢组学的方法研究氯胺酮的长期膀胱毒性, 以确定内源性代谢物的变化。这有助于解释与氯胺酮相关的膀胱炎的生成机制。

## 材料与方 法

**试剂与药品** 甲氧胺盐酸盐 (98%, 批号: 5001E07 X, 美国 Aldrich 公司), BSTFA+1% TMCS (1 g, 批号: 60196, 美国 Regis 公司), 硬脂酸甲酯 (99.5%, 批号: J22-A, 中国阿拉丁公司), 乙腈、吡啶、正庚烷等。氯胺酮申请备案于四川省公安局, 纯度为 99.3%, 用超纯水配置成 100 mg·L<sup>-1</sup> 的母液备用。

**实验仪器** ST8R 冷冻离心机 (美国 Thermo Fisher

公司); N-1200AS 旋转蒸发集中器 (日本 Eyela 公司); GAMMA 1-16 冷冻干燥机 (德国 Christ 公司); Agilent 7890C GC-MS 和 AMDIS 6.51 分析软件 (美国 Agilent 公司); SIMCA-P11.0 分析软件 (美国 Umetrics 公司)。

**给药方法** 雄性 SD 大鼠 24 只, 体重 220±20 g, 购自成都达硕实验动物有限公司 [SCXK (川) 2015-030]。适应性喂养一周, 饲养环境如下: 饲养温度 23±2 °C, 湿度 50%±10%, 光照/黑暗 12 h 交替, 自由饮水进食。所有实验均遵照四川省实验动物管理委员会的规定进行, 符合《实验动物管理和使用指导》。本实验获得西南医科大学动物实验中心伦理委员会批准 (批准号: 201901-98)。将大鼠分为给药组和对照组, 每组 8 只, 腹腔注射低剂量氯胺酮 (10 mg·kg<sup>-1</sup>) 和高剂量氯胺酮 (50 mg·kg<sup>-1</sup>), 对照组给予等量生理盐水, 连续给药 12 周, 每天 1 次, 每周称重, 根据体重变化调整给药量。

**大鼠一般行为观察及样本采集** 每日观察大鼠行为表现, 每周记录体重, 每两周记录大鼠 2 h 尿频次数 (在固定 2 h 内, 观察大鼠尿的次数, 参考文献<sup>[11]</sup>方法); 在给药 12 周末次给药后 24 h 后, 采用代谢笼收集大鼠 24 h 尿液, 然后麻醉大鼠, 取心血, 剥离膀胱组织肉眼观察并称重, 计算膀胱脏器系数 [膀胱脏器系数=膀胱重量 (g)/体重 (g)×100%], 样品放置于 -80 °C 冰箱冻存备检。

**血清 ELISA 分析** 用促凝管采集大鼠心血, 静置 30 min, 以 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取上清液用于 ELISA 检测。IL-6 和 TNF- $\alpha$  试剂盒购于江苏南京建成生物有限公司, 按试剂盒操作说明进行操作。

**膀胱组织 HE 染色** 取同一部位的膀胱组织固定于 4% 多聚甲醛中, 石蜡包埋, 在一系列酒精浓度下脱水, 切片, 进行常规 H.E 染色。在 200 倍显微镜下观察染色切片 (Olympus Bx53, 日本)。

## 尿液代谢组学分析

**样本前处理** 样品根据参考文献<sup>[16]</sup>方法, 采用衍生化的方式处理, 取尿液 100  $\mu$ L 于 EP 管中, 加乙腈 300  $\mu$ L 沉淀蛋白, 4 °C 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液 100  $\mu$ L, 旋转蒸发浓缩至近干, 然后在冻干机中冻干过夜。加入甲氧胺盐酸盐的吡啶溶液 (15 mg·mL<sup>-1</sup>) 30  $\mu$ L, 密封涡旋。16 °C 下避光脎化 16 h, 再迅速加入 BSTFA+1% TMCS 30  $\mu$ L, 于 70 °C 烘箱中甲基硅烷化 1 h, 冷却后, 加入内标溶液 (10  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>) 100  $\mu$ L, 将所

有处理好的样本溶液各取 10  $\mu\text{L}$  混合, 即为质量控制 (QC) 样本, 取上清液进 GC-MS 分析。

**仪器参数及数据处理** 色谱柱采用 DB-5MS, 0.25 mm $\times$ 30 m $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ; 程序升温: 起始温度为 60  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 1 min, 然后以 10  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  升温至 325  $^{\circ}\text{C}$ , 最后保持 10 min; 质谱接口、离子源和四极杆温度分别为 280、230 和 150  $^{\circ}\text{C}$ ; 采用 EI 源, 碰撞电压设置为 70 eV 质谱, 全扫描模式 ( $m/z$  50~600), 扫描速度为 2 spectra/s; 采集的数据经 AMDIS 6.51 软件 (Agilent, 美国) 去卷积和进行谱峰的确证, 将与 NIST 2014 (Agilent, 美国) 质谱库匹配大于 80% 的色谱峰作为代谢物定性的标准, 进行保留时间校准、峰对齐等操作, 将数据导入 Metaboanalyst 进行分析, 包括: 主成分分析 (PCA)、偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA)、 $t$  检验、倍数变化分析 (FC) 等; 差异化合物筛选标准为变量投影重要度 (VIP) 大于 1.5 以及  $t$  检验  $P < 0.05$ 。

**统计学分析** 以均值 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 数据统计学处理采用 SPSS 19.0 统计学软件 (version 19.0 for Windows, SPSS Inc., America) 进行分析, 检验水准  $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结果

### 1 大鼠尿频及膀胱质量系数

每 2 周大鼠 2 h 尿频次数结果见图 1A。由图可知在 10 周前, 对照组和低剂量给药组 2 h 尿频次数没有

显著性差异, 在 10 周和 12 周 2 h 尿频次数有显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 高剂量组自给药 8 周起, 与对照组相比 2 h 尿频次数有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。大鼠膀胱脏器系数结果见图 1B。低剂量组与高剂量组与对照组相比都有显著性差异。

### 2 血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$

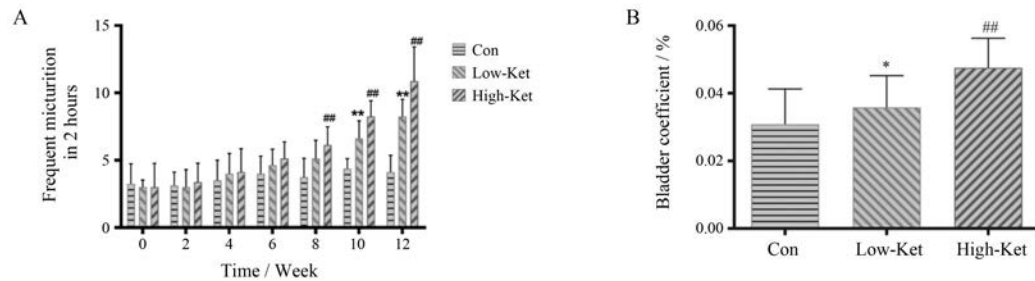
大鼠血清 ELISA 结果见图 2。血清 IL-6 (图 2A) 低剂量组与对照组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 高剂量组与对照组相比差异显著 ( $P < 0.01$ ); 血清 TNF- $\alpha$  (图 2B) 低剂量、高剂量和对照组相比都具有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。

### 3 氯胺酮对膀胱组织的改变

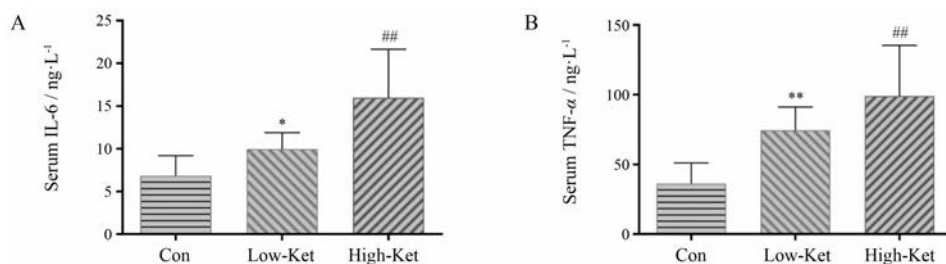
膀胱组织病理改变见图 3。对照组 (图 3A) 显示膀胱正常变移上皮, 未见异常改变; 低剂量氯胺酮组 (图 3B) 可见膀胱变移上皮中度炎细胞浸润; 高剂量氯胺酮组 (图 3C) 可见膀胱变移上皮大量红细胞漏出, 伴大量中性炎细胞浸润。

### 4 代谢组学

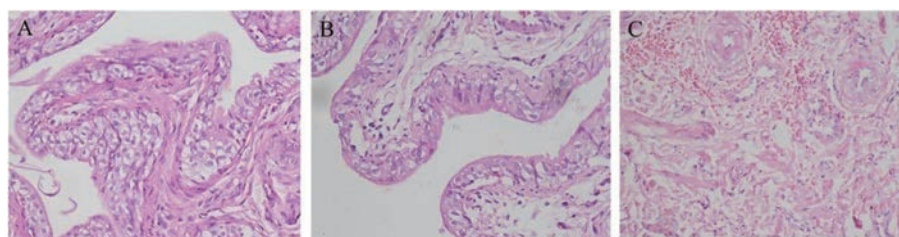
**4.1 各组模式识别分析** 以 QC 样本为参考, 将其各信号峰强度以变异系数 ( $\text{CV} < 30\%$ ) 为筛选条件, 共检测出 72 种代谢物。进一步采用 PLS-DA 模式识别方法进行分析。PLS-DA 是一种有监督的模式识别方法, 目的是建立类别间的数学模型, 使样本间达到最大分离。PLS-DA 得分图可以看到给药组大鼠尿液中的内源性代谢物与正常组相比发生了明显的变化, 见图 4。



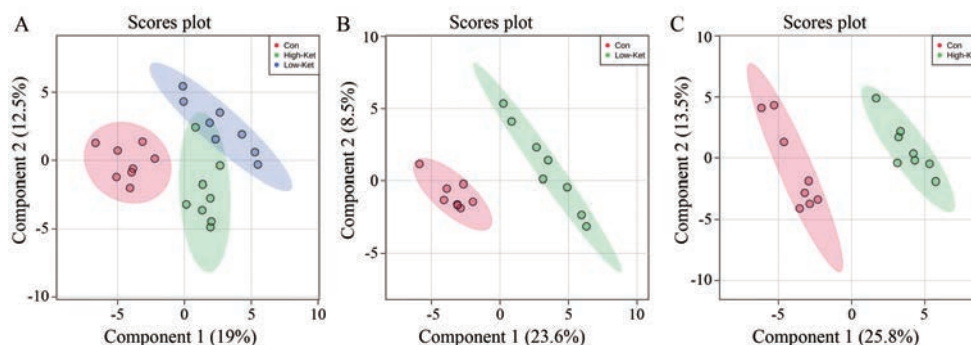
**Figure 1** Two-hour urinary frequency and organ coefficient of the bladder in rats. A: Two-hour urinary frequency; B: Organ coefficient of the bladder. Organ coefficient of the bladder was calculated by the equation: weight of bladder (g)/body weight (g) $\times$ 100%. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs Con; \*\* $P < 0.01$  vs Con. Con: Control; Low-Ket: 10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$  Ketamine group; High-Ket: 50 mg $\cdot$ kg $^{-1}$  Ketamine group



**Figure 2** Serum contents of inflammatory factors. Contents of IL-6 (A) and TNF- $\alpha$  (B) in serum from rats. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs Con; \*\* $P < 0.01$  vs Con



**Figure 3** Histopathological changes of the bladder. Hematoxylin-eosin staining was used to examine histopathological changes. Magnification, 200×



**Figure 4** Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) score plot among different groups. A: Control group vs low-dose ketamine group and high-dose ketamine group; B: Control group vs low-dose ketamine group; C: Control group vs high-dose ketamine group

3组共同进行PLS-DA分析, 对照组与给药组呈明显分离, 低剂量给药组与高剂量给药组有小部分重合。

该PLS-DA模型采用交叉验证的方法进行分析模型的可靠性验证。在对照组和低剂量氯胺酮给药组之间,  $R^2 = 0.995$ ,  $Q^2 = 0.903$ ; 在对照组和高剂量氯胺酮给药组之间,  $R^2 = 0.994$ ,  $Q^2 = 0.894$ 。 $R^2$ 代表模型的可解释变量,  $Q^2$ 代表模型的可预测变量。理论上,  $R^2$ 和 $Q^2$ 越接近1越好。通常 $R^2$ 和 $Q^2$ 大于0.5, 并且两者差值不大(小于0.3), 则表明模型拟合较好。根据交叉验证结果显示PLS-DA模型拟合较好。

**4.2 潜在特征代谢物筛选及其单变量分析** 差异物质分析以PLS-DA模型的VIP > 1.5和t检验的 $P < 0.05$ , 且倍数变化(FC) > 2 (或<0.5)为标准筛选差异物质, 结

果见表1和表2。通过对照组和低剂量给药组、对照组和高剂量给药组分别进行分析, 发现2-氨基异丁酸、柠檬酸和尿酸这3种物质是共同的差异代谢物, 与对照组比较, 其相对浓度呈增加趋势, 且在高剂量组中的浓度增加更加显著。各差异代谢物的质谱信息图见表3。

**讨论**

本实验采用GC-MS联合模式识别方法、统计分析技术, 对氯胺酮性膀胱炎尿液代谢状况进行了初步探索, 发现3-氨基异丁酸, 柠檬酸和尿酸可能与氯胺酮性膀胱炎密切相关。

3-氨基异丁酸又称β-氨基异丁酸, 是一种非蛋白β-氨基酸。3-氨基异丁酸参与嘧啶代谢途径<sup>[17]</sup>。胸腺嘧

**Table 1** Differential substances between control group and low-dose ketamine group. RT: Retention time; FC: Fold change; VIP: Variable importance in the projection

Metabolite	HMDB	RT/min	VIP	P	FC	Trend (vs control)
2,3-Butanediol	HMDB0003156	5.645	1.912 4	0.000 183	0.210 69	↑
3-Aminoisobutyric acid	HMDB0001906	9.505	2.451 3	0.001 624	0.117 72	↑
Citric acid	HMDB0000094	15.715	2.524 7	0.004 112	0.465 18	↑
Uric acid	HMDB0000289	18.504	2.075 9	0.005 461	0.327 89	↑

**Table 2** Differential substances between control group and high-dose ketamine group

Metabolite	HMDB	RT/min	VIP	P	FC	Trend (compared with control)
3-Aminoisobutyric acid	HMDB0001906	9.505	1.719 2	0.000 114	0.109 87	↑
Pentitol	HMDB0000508	13.548	1.580 4	0.000 810	2.221 00	↓
Citric acid	HMDB0000094	15.715	1.674 1	0.000 233	0.175 69	↑
D-Gluconic acid	HMDB0000625	17.201	1.791 9	0.000 029	2.521 30	↓
Uric acid	HMDB0000289	18.504	1.541 2	0.001 269	0.143 57	↑

**Table 3** Mass spectral information of different metabolites

Compound	RT/min	Target ion	Fragment ion 1	Fragment ion 2
3-Aminoisobutric acid	9.505	248	174	73
Pentitol	13.548	217	147	103
Citric acid	15.715	374	273	147
D-Gluconic acid	17.201	319	147	205
Uric acid	18.504	456	441	73

啉被分解成 $\beta$ -氨基异丁酸,胞嘧啶可分解为尿嘧啶,尿嘧啶可分解为 $N$ -氨甲酰- $\beta$ -丙氨酸,然后再分解为 $\beta$ -丙氨酸。 $\beta$ -丙氨酸和 $\beta$ -氨基异丁酸作为 $\alpha$ -酮戊二酸转氨为谷氨酸的 $-NH_2$ 供体。随后的反应将产物在线粒体内进一步转化为丙二酰辅酶A或甲基丙二酰辅酶A(转化为丁二酰辅酶A并可分流至柠檬酸循环)。在氯胺酮导致的膀胱炎大鼠尿液中,低剂量组和高剂量组中3-氨基异丁酸相对浓度增加,表明胸腺嘧啶分解代谢被激活, $\beta$ -氨基异丁酸产生增加。3-氨基异丁酸激活ROS氧化路径<sup>[18]</sup>,ROS对肾小球、膀胱均有损伤作用,促进膀胱间质纤维化。但也有报道3-氨基异丁酸可以减弱脂多糖诱导的炎症反应<sup>[19]</sup>,这与作者的研究结果不一致,可能还需进一步深入研究。3-氨基异丁酸是细胞过表达过氧化酶增殖激活受体的转录辅助活化因子1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ )时分泌的一种小分子代谢产物,通过过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor $\alpha$ , PPAR $\alpha$ )增加脂肪酸氧化,而引起炎症和氧化应激<sup>[20]</sup>,这可能是氯胺酮性膀胱炎机制之一。

柠檬酸是在三羧酸循环中形成的一种弱酸,在柠檬酸裂解酶催化下需消耗ATP将柠檬酸裂解回草酰乙酸和乙酰辅酶A<sup>[21]</sup>,乙酰辅酶A和柠檬酸共同激活乙酰辅酶A羧化酶,促进丙二酸单酰辅酶A,这与 $\beta$ -氨基异丁酸代谢途径又联系起来,相互促进。另一方面,柠檬酸在顺乌头酸酶的催化下转化为异柠檬酸,在顺乌头酸酶的作用下进一步反应。而在本实验中柠檬酸相对于对照组相对浓度增加,提示可能柠檬酸裂解酶或顺乌头酸酶、异柠檬酸脱氢酶相关柠檬酸代谢的酶失活,氯胺酮可能就作用于相关代谢靶标。柠檬酸相关代谢途径可由睾酮和催乳素调节<sup>[22]</sup>,关键调节酶是线粒体天冬氨酸氨基转移酶、丙酮酸脱氢酶和线粒体乌头酸酶。氯胺酮长期使用可能导致尿路上皮细胞分泌释放多种神经递质,包括ATP、NO、乙酰胆碱来调节膀胱逼尿肌舒缩<sup>[23]</sup>。膀胱膨胀扩张引起膀胱黏膜上皮细胞释放ATP,这与柠檬酸循环的能量代谢相关,而细胞外ATP通过P2X3受体介导并激活小型神经节细胞,释放传入神经冲动,引起尿意。反过来,ATP还可以激活

尿路上皮下神经末梢的P2X3受体,释放神经冲动引起膀胱收缩<sup>[24]</sup>。氯胺酮相关性膀胱炎其损害机制与尿路上皮屏障通透性改变有关。其致病机制可能与氯胺酮通过某通路,引起ZO-1蛋白异常表达<sup>[25]</sup>,继而影响微丝运动,紧密连接受损,膀胱尿路上皮屏障破坏有关。

尿酸是一种杂环嘌呤衍生物,是嘌呤代谢的最终氧化产物。长期氯胺酮滥用可能影响机体对嘌呤能神经递质释放的抑制作用,膀胱传入神经冲动过分活跃,从而导致膀胱逼尿肌过度活动<sup>[26]</sup>。长期氯胺酮滥用引起尿路上皮细胞嘌呤能神经递质过量分泌释放,也可能是重要的发病机制,膀胱上皮屏障由氨基葡聚糖(GAG)、上皮细胞之间的紧密连接以及特化的伞状细胞组成。黄嘌呤等氧嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下氧化成尿酸,尿酸酶进一步将尿酸氧化成尿酸素。在该实验结果中显示尿酸在氯胺酮给药组中显著上升,提示黄嘌呤氧化酶被激活,尿酸酶被抑制,使得尿酸合成增加,分解减少。一些转运蛋白参与调节尿酸水平。其中包括控制尿酸重吸收的尿酸转运蛋白1(URAT1),有机离子转运蛋白(OAT),如OAT1和OAT3<sup>[27]</sup>,以及依赖于ATP的尿酸转运蛋白(MRP4)<sup>[28]</sup>。URAT1被认为是调节尿酸水平的最关键因素。慢性高尿酸症可由肾脏肾小球滤过率降低、尿酸盐排泄量减少或肾小管吸收增加引起。高尿酸与许多疾病和条件有关,包括痛风、高血压、心血管疾病、心肌梗死、中风和肾病。尿酸也被认为是炎症的重要引发剂和放大剂<sup>[29]</sup>,因而也可能是引起氯胺酮性膀胱炎的因素之一。

研究表明,尿酸可被树突状细胞、巨噬细胞和中性粒细胞等固有免疫细胞的TLRs识别,通过IL-1受体与髓系分化因子88(MyD88)结合形成复合物,募集IRAK并使之活化,通过下游激酶级联反应,激活转录因子NF- $\kappa$ B,引起促炎细胞因子基因的转录和表达,诱导产生细胞因子如IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18及TNF- $\alpha$ 等<sup>[30]</sup>。IL-1 $\beta$ 与尿酸钠结晶诱导的炎症反应密切相关,IL-1 $\beta$ 作用于上皮细胞使其分泌趋化因子和黏附因子,引起间质中炎症细胞的浸润和活化,扩大炎症反应;另研究<sup>[31]</sup>表明IL-1 $\beta$ 能够促进微血管内皮细胞表达 $\alpha$ -SMA和I型胶原,诱导该细胞发生间充质转化,引起间质纤维化形成。IL-1 $\beta$ 抑制剂或受体拮抗剂可减少组织炎症细胞浸润,改善尿酸引起的炎症反应。

综上,3-氨基异丁酸、柠檬酸和尿酸及其相关代谢途径可能与氯胺酮诱导的膀胱炎密切相关。

**作者贡献:** 廖林川设计整个实验方案;吴知桂、殷文贤和司元楷进行实验操作;罗宏丽和孙梦琦进行数据分析;吴知桂撰写论文;廖林川修改论文。

**利益冲突:** 无利益冲突。

## References

- [1] Chen L, Malek T. Follow me down the K-hole: ketamine and its modern applications [J]. *Crit Care Nurs Q*, 2015, 38: 211-216.
- [2] Réus GZ, Carlessi AS, Titus SE, et al. A single dose of *S*-ketamine induces long-term antidepressant effects and decreases oxidative stress in adulthood rats following maternal deprivation [J]. *Dev Neurobiol*, 2015, 75: 1268-1281.
- [3] Zanos P, Moaddel R, Morris PJ, et al. NMDAR inhibition-independent antidepressant actions of ketamine metabolites [J]. *Nature*, 2016, 533: 481-486.
- [4] Vogt MA, Vogel AS, Pfeiffer N, et al. Role of the nitric oxide donor sodium nitroprusside in the antidepressant effect of ketamine in mice [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2015, 25: 1848-1852.
- [5] Wang C, Liu F, Patterson TA, et al. Preclinical assessment of ketamine [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19: 448-453.
- [6] Trujillo KA, Smith ML, Sullivan B, et al. The neurobehavioral pharmacology of ketamine: implications for drug abuse, addiction, and psychiatric disorders [J]. *ILAR J*, 2011, 52: 366-378.
- [7] Shahani R, Streutker C, Dickson B, et al. Ketamine-associated ulcerative cystitis: a new clinical entity [J]. *Urology*, 2007, 69: 810.
- [8] Muetzelfeldt L, Kamboj SK, Rees H, et al. Journey through the K-hole: phenomenological aspects of ketamine use [J]. *Drug Alcohol Depend*, 2008, 95: 219-229.
- [9] Chu PSK, Kwok SC, Lam KM, et al. 'Street ketamine'-associated bladder dysfunction: a report of ten cases [J]. *Hong Kong Med J*, 2007, 13: 311-313.
- [10] Tsai TH, Cha TL, Lin CM, et al. Ketamine-associated bladder dysfunction [J]. *Int J Urol*, 2009, 16: 826-829.
- [11] Gu D, Huang J, Yin Y, et al. Long-term ketamine abuse induces cystitis in rats by impairing the bladder epithelial barrier [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41: 7313-7322.
- [12] Wu P, Shan Z, Wang Q, et al. Involvement of mitochondrial pathway of apoptosis in urothelium in ketamine-associated urinary dysfunction [J]. *Am J Med Sci*, 2015, 349: 344-351.
- [13] Chuang SM, Liu KM, Li YL, et al. Dual involvements of cyclooxygenase and nitric oxide synthase expressions in ketamine-induced ulcerative cystitis in rat bladder [J]. *NeuroUrol Urodyn*, 2013, 32: 1137-1143.
- [14] Wei YB, Yang JR, Yin Z, et al. Genitourinary toxicity of ketamine [J]. *Hong Kong Med J*, 2013, 19: 341-348.
- [15] Lu X, Tang Q, Ye Y, et al. A Preliminary urinary metabolomics study of Sprague-Dawley rats after short-term ketamine administration by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *J Forensic Sci Med*, 2016, 2: 91.
- [16] Kanani H, Chrysanthopoulos PK, Klapa MI. Standardizing GC-MS metabolomics [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2008, 871: 191-201.
- [17] Shi CX, Zhao MX, Shu XD, et al.  $\beta$ -Aminoisobutyric acid attenuates hepatic endoplasmic reticulum stress and glucose/lipid metabolic disturbance in mice with type 2 diabetes [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21924.
- [18] Zhu XW, Ding K, Dai XY, et al.  $\beta$ -Aminoisobutyric acid accelerates the proliferation and differentiation of MC3T3-E1 cells *via* moderate activation of ROS signaling [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81: 611-618.
- [19] Lee W, Yun S, Choi GH, et al. BAIBA attenuates the expression of inflammatory cytokines and attachment molecules and ER stress in HUVECs and THP-1 cells [J]. *Pathobiology*, 2018, 85: 280-288.
- [20] Roberts LD, Bostrom P, O'Sullivan JF, et al.  $\beta$ -Aminoisobutyric acid induces browning of white fat and hepatic  $\beta$ -oxidation and is inversely correlated with cardiometabolic risk factors [J]. *Cell Metab*, 2014, 19: 96-108.
- [21] Alves TC, Pongratz RL, Zhao X, et al. Integrated, step-wise, mass-isotopomeric flux analysis of the TCA cycle [J]. *Cell Metab*, 2015, 22: 936-947.
- [22] Alexandrino AP, Rodrigues MA, Matsuo T, et al. Evaluation of seminal citrate level by  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy in men with spinal cord injury [J]. *Spinal Cord*, 2009, 47: 878-881.
- [23] Baker SC, Shabir S, Georgopoulos NT, et al. Ketamine-induced apoptosis in normal human urothelial cells: a direct, *N*-methyl-*D*-aspartate receptor-independent pathway characterized by mitochondrial stress [J]. *Am J Pathol*, 2016, 186: 1267-1277.
- [24] Burnstock G. Purinergic signalling: therapeutic developments [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 661.
- [25] Duan Q, Wu T, Yi X, et al. Changes to the bladder epithelial barrier are associated with ketamine-induced cystitis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14: 2757-2762.
- [26] Meng E, Chang HY, Chang SY, et al. Involvement of purinergic neurotransmission in ketamine induced bladder dysfunction [J]. *J Urol*, 2011, 186: 1134-1141.
- [27] Miner JN, Tan PK, Hyndman D, et al. Lesinurad, a novel, oral compound for gout, acts to decrease serum uric acid through inhibition of urate transporters in the kidney [J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18: 214.
- [28] Wang Z, Cui T, Ci X, et al. The effect of polymorphism of uric acid transporters on uric acid transport [J]. *J Nephrol*, 2018, 32: 177-187.
- [29] Szekanecz Z, Szamosi S, Kovacs GE, et al. The NLRP3 inflammasome - interleukin 1 pathway as a therapeutic target in gout [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 30: 82-93.
- [30] Wu H, Zhou M, Lu G, et al. Emodinol ameliorates urate nephropathy by regulating renal organic ion transporters and inhibiting immune inflammatory responses in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 727-735.
- [31] Lu XY, Zou W, Dong YQ, et al. Anti-renal fibrosis effect of asperulosidic acid *via* TGF- $\beta$ 1/smad2/smad3 and NF- $\kappa$ B signaling pathways in a rat model of unilateral ureteral obstruction [J]. *Phytomedicine*, 2019, 53: 274-285.