

维吾尔医异常黑胆质证大鼠模型的尿液代谢组研究

米热阿依·亚力昆¹, 阿合尔扎马尼·麦麦提², 巴哈古力·阿卜都热合曼¹
太力艾提·吐尔洪², 迪那拉·恰热甫汗¹, 阿仙姑·哈斯木³, 巴吐尔·买买提明^{4*}

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学维吾尔医学院, 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011; 4. 新疆医科大学中心实验室, 乌鲁木齐 830011)

【摘要】 目的 用外部特征观察与尿液代谢组研究相结合的方式, 对维吾尔医异常黑胆质证大鼠模型进行生物学标志评价与讨论。**方法** 采用维吾尔医异常黑胆质理论建立大鼠动物模型, 并对其各项外部指标如毛发、舌象、睡眠、粪便、情绪、体重增长率等进行观察和评分, 采用核磁共振氢谱(¹H- nuclear magnetic resonance, ¹H-NMR)对其尿液进行检测与分析。**结果** 异常黑胆质证模型组大鼠与对照组相比较外部特征发生了明显的变化, 包括粪便干燥且硬, 尿量减少且颜色加深, 皮毛干燥, 舌苔暗紫并有瘀斑, 体重增长率降低等; 尿液代谢物中 23 种代谢物含量明显降低包括丙酸酯、乳酸、丙氨酸、丙酮酸、乙酸、乙酰胺、糖蛋白、丙酮、甲胍、肌氨酸、鸟氨酸、甘氨酸、肌酸、肌酸酐、肌胺酸酐、β-半乳糖、尿刊酸酯、酪氨酸、苯丙氨酸、马尿酸、氨基马尿酸、甲酸和赖氨酸等, 而尿素、柠檬酸、尿囊素和 α-酮戊二酸等 4 种代谢物含量明显升高。**结论** 模型组大鼠在异常黑胆质证发生发展过程中不但外在表形发生明显变化, 而且也发生了内在多种代谢通路的明显变化, 尿液代谢产物的明显异常可能与异常黑胆质证的生物学机制有关。

【关键词】 异常黑胆质; 大鼠模型; 代谢组学

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 02-0174-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.02.006

Urine metabonomics study of abnormal Savda syndrome rat model in Uyghur traditional medicine

YALIKUN Mireayi¹, MAMAT Akilzaman², ABUDUREHEMAN Bahaguli¹, TUERHONG Tailiaiti²,
QIAREFUHAN Dinala¹, HASIM Ayshangul³, MAMTIMIN Batur^{4*}

(1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China. 2. College of Traditional Uyghur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011. 3. College of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011. 4. Central Laboratory, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011)

Corresponding author: Batur MAMTIMIN. E-mail: batur72@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate and discuss the changes of biomarkers of abnormal Savda syndrome rat model in Uyghur traditional medicine by external feature observation and urine metabolomics assessment. **Methods** The abnormal Savda syndrome rat model was established according to the theory of Uyghur traditional medicine. Its external characteristics such as hair, tongue, sleep, feces, emotion and weight growth rate were observed and scored, and their urine was detected and analyzed by proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectroscopy. **Results** Compared with

【基金项目】 国家自然科学基金(No. 81460749); 国家自然科学基金-新疆联合基金(No. U1603119)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (No. 81460749) and National Natural Science -XINJIANG United Foundation (No. U1603119)。

【作者简介】 米热阿依·亚力昆(1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 代谢组学。E-mail: 1316539691@qq.com

【通信作者】 巴吐尔·买买提明(1972—)男, 教授, 硕士生导师。E-mail: batur72@163.com

the healthy control group, there were significant changes in the external features in the abnormal Savda syndrome rat model group, including dry and hard stools, reduced urine output and darker color, dry fur, dark purple tongue with ecchymosis, and decreased weight growth rate. Moreover, 23 urinary metabolites were significantly reduced, including propionate, lactic acid, pyruvic acid, acetic acid, alanine, acetamide, glycoprotein, acetone, methyl guanidine, sarcosine, ornithine, glycine, creatine, creatinine, aminoanhydride, β -galactose, urocanate, tyrosine, phenylalanine, hippuric acid, aminohippuric acid, formic acid and lysine. However, urea, citric acid, allantoin and α -ketoglutaric acid were significantly increased. **Conclusions** During the development process of Savda syndrome, there are not only abnormal changes in external appearance in the model rats, but also evident changes of many internal metabolic pathways. The obvious abnormalities of the urine metabolites may be related to the biological mechanisms of abnormal Savda syndrome.

[Key words] abnormal Savda syndrome; rat model; metabonomics

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

维吾尔医学以四大物质学说为基础发展出了多种理论体系,其中体液论是由四大物质和气质论的基础上发展的重要学说之一^[1]。体液论认为异常黑胆质证作为一种证候,在其发生、发展过程中受到多种内外因素包括饮食(干寒属性饮食)、环境(干寒环境、环境污染等)、精神因素(焦虑、愤怒、恐慌、忧虑等)的综合作用下致病性和危险性逐步增强,最终导致肿瘤、高血压、哮喘、糖尿病等复杂性疾病^[2]。相对于其他体液质而言,异常黑胆质的致病性、危险性及其恶性程度最高。

本研究以异常黑胆质证为研究对象,采用传统的外部特征观察与代谢组学研究手段相结合的方式,分析大鼠外部特征与尿液代谢物成分轮廓的变化特点,阐述异常黑胆质证大鼠尿液代谢成分变化程度,寻找与异常黑胆质证发生、发展相关的潜在特异性代谢标志物及其变化机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 14 只,4~6 周龄,体重(180 $\pm$ 20)g,来自新疆医科大学实验动物中心【SCXK(新)2011-0004】,并在此实验【SYXK(新)2011-0001】。首先进行为期 3 d 的适应性饲养,根据体重随机分为 2 组,即对照组($n=7$)和异常黑胆质证模型组($n=7$)。实验程序符合实验动物伦理学的相关规定,批准号:IACUC-20140304001。

1.1.2 试剂与仪器

DSS 缓冲液(武汉安隆科讯技术有限公司),RXZ-436 A 气候箱(宁波江南仪器厂),体温计、电击笼、代谢笼、5 mm 核磁管(美国 Wilmad Lab Glass 公司);超纯水 Milli-Q 系统(美国 Millipore 公司),

600 MHz 核磁共振波谱仪(美国 Varian 公司)。

1.2 方法

1.2.1 异常黑胆质证模型的制备

将实验大鼠置于干寒饲养环境,相对湿度 25%~32.8%,温度(6 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$,用干寒饲料喂养;干寒饲料用等重量的芫荽子和大麦与普通鼠饲料按 7:3 比例均匀混合制作。进行间断的足底电刺激:第 1 周电压 20/25 V,每次 25 min,1 日/次;第 2 周电压 30/35 V,每次 35 min,1 日/次;第 3 周电压 45/50 V,每次 45 min,1 日/次;制动:第 1 周 1 次/日,每次 40 min;第 2 周 1 次/日,每次 60 min;第 3 周 1 次/日,每次 90 min。上述多因素复合刺激下饲养 21 d,建立异常黑胆质证大鼠动物模型。

1.2.2 外部特征观察

由固定实验人员对大鼠的各项外部特征进行观察,包括毛发、舌苔、睡眠、粪便、尿量、饮水饮食情况、行为、兴奋程度、情绪和体重增长率等,并按照文献^[3]所描述的评分标准在开始建模的第 7 天、第 14 天、第 21 天对大鼠进行评分,24 分为模型成立的临界值,超过 24 分为模型成立。

1.2.3 尿液核磁共振氢谱的检测

将样品以 12 000 r/min 离心 10 min,取 450 μL 上清液至 5 mm 核磁管中,再加入 DSS 缓冲溶液 50 μL 以便进行锁场和定标操作。采用 NOESYPRESAT-ID (RD-90 $^{\circ}$ -t₁-90 $^{\circ}$ -t_m-90 $^{\circ}$ -ACQ) 脉冲序列进行氢谱的测定。压制水的信号采用预饱和方式和时间 2 s,图谱采用 32 k 的采样点数和 10 000 Hz 谱宽,扫描次数 128 次,采样时间均为 1.64 s,测试温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。为了图谱中代谢物的确认,对部分样本进行了核磁共振二维谱检测,包括质子全相关谱(TOCSY), ^1H - ^1H 同核相关谱(^1H - ^1H COSY)和 J-分解谱(J-RES)等。

1.3 图谱处理和统计学分析

对所有核磁共振氢谱进行手动相位及基线调整,并用增宽因子为 0.5 Hz 的指数窗函数进行处理。DSS 作为内标,其化学位移定为 0 ppm。对每一个氢谱进行分段积分,积分段为 0.003 ppm,范围是 0 ~ 10 ppm,总积分段是 3367 个。积分值进行归一化处理,除去水峰信号范围 $\delta_H = 4.95 \sim 4.70$ ppm,对数据采用 SIMCA 软件进行正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least-squares discriminant analysis, OPLS-DA)。本研究中对数据进行 OPLS-DA 分析之前通过 200 次的排列验证试验对 PLS 模型进行外部验证。多变量分析中的变量相关系数(correlation coefficient, r)是判断代谢物在两组中差异性的依据。 r 值为正的代谢物在异常黑胆质证模型组大鼠尿液中含量比对照组高的代谢物,而 r 值为负的代谢物在异常黑胆质证模型组大鼠尿液中含量比对照组低的代谢物。差异性代谢物采用 Metabo Analyst 3.0 进行代谢通路分析,确定这些代

谢物参与的代谢通路,结果中通路影响因子(pathway impact) > 0.1 和 $-\log(p) > 3$ 的代谢通路被确定为 2 组中差异明显的代谢通路。

2 结果

2.1 异常黑胆质载体模型外部特征的变化

对照组大鼠与异常黑胆质证大鼠外表、舌像、粪便及尿液状态比较的结果见图 1。结果显示,正常组大鼠的皮肤毛发有光泽、不毛躁,舌像淡粉色、红润,粪便成形、呈黏糊状,尿液尿量正常、呈淡黄色;而异常黑胆质证模型大鼠皮肤毛发粗糙、无光泽,舌像暗紫、有斑点,粪便成形、干燥且不易排出,尿量较少、棕黄色、有臭味。另外,正常对照组大鼠行为较活泼、睡眠良好、饮水和饮食量正常、对刺激敏感;而异常黑胆质证模型大鼠精神呆滞、蜷缩少动、易惊、嗜睡、饮水和饮食量减少、对刺激反应性迟钝、易怒、攻击性强。



注:a、b、c、d 为对照组;e、f、g、h 为异常黑胆质证组。

图 1 对照组大鼠与异常黑胆质证大鼠外表、舌像、大便及尿液状态比较

Note. a, b, c and d are of the healthy control groups. e, f, g and h are of the abnormal Savda syndrome groups.

Fig. 1 Comparison of the external appearance, tongue, stool and urine between the rats of healthy control group and abnormal Savda syndrome group

2.2 异常黑胆质证评分结果

分别在开始建模第 7 天、第 14 天、第 21 天对每个动物进行评分,图 2 显示评分变化结果。根据结果显示,造模第 7 天对照组及异常黑胆质证载体模型组大鼠的评分 < 15 分;造模第 14 天对照组大鼠评分 < 15 分,而异常黑胆质证组大鼠评分值为 15 ~ 22 分;造模第 21 天对照组大鼠 < 15 分,而异常黑胆质证组大鼠评分值为 25 ~ 29 分。

2.3 体重增长

对照组与异常黑胆质证组大鼠体重变化曲线如图 3 所示。结果显示,随着模型的建立,两组的体重差距逐步扩大,模型组的大鼠体重增长率明显低于对照组。

2.4 尿液代谢物变化

对照组与异常黑胆质证组大鼠尿液样本核磁共振氢谱数据采用 PLS-DA 分析后的得分图和排列

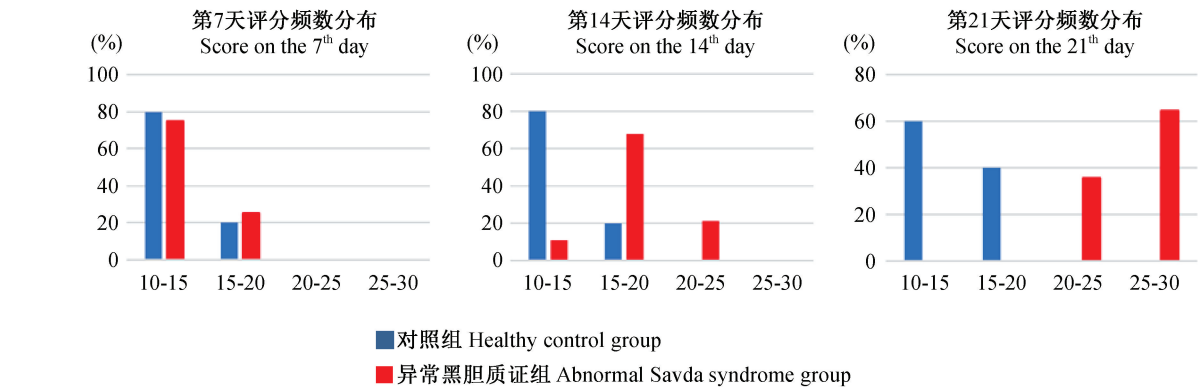


图 2 对照组与异常黑胆质证组评分值分布图

Fig. 2 Score distribution map of the healthy control group and abnormal Savda syndrome group

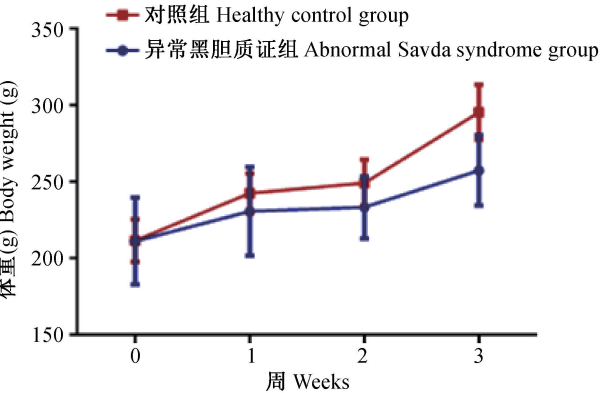
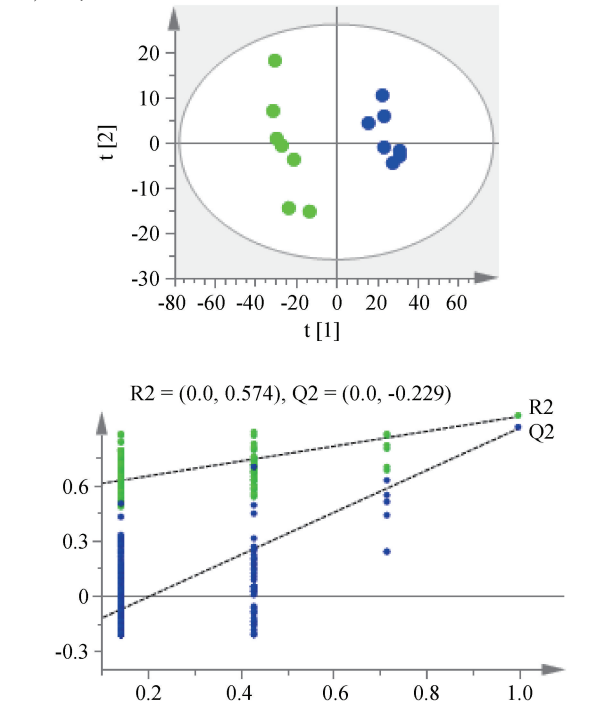


图 3 对照组与异常黑胆质证组大鼠体重变化曲线

Fig. 3 Changes of body weight in the healthy control group and abnormal Savda syndrome group

验证实验结果如图 4 所示。排列验证实验结果显示,实验参数分别 $R^2 = (0.0, 0.574)$, $Q^2 = (0.0, -0.229)$,可见 PLS 模型真实有效。2 组大鼠尿液检测数据进行 OPLS-DA 分析确定了 27 种差异性代谢物,结果见表 1。表 1 中,异常黑胆质证组大鼠尿液中含量比对照组高的代谢物 r 值为正,而含量低的代谢物 r 值为负。图 5 显示 OPLS-DA 分析的相关系数图(s-line plot),其颜色变化表示代谢物在不同组别之间的差异程度,图中红色表示差异性大,蓝色表示差异性小,其方向指向含量高的组。结果显示,异常黑胆质证组大鼠尿液中共有 23 种代谢物含量明显降低,而 4 种代谢物含量明显升高;含量降低的代谢物有丙酸酯、乳酸、丙氨酸、丙酮酸、乙酸、乙酰胺、糖蛋白、丙酮、甲胍、肌氨酸、鸟氨酸、甘氨酸、肌酸、肌酸酐、肌胺酸酐、 β -半乳糖、尿刊酸酯、酪氨酸、苯丙氨酸、马尿酸、氨基马尿酸、甲酸和赖氨酸;含量升高的代谢物有尿素、柠檬酸、尿囊素和 α -酮戊二酸等。采用 MetaboAnalyst 3.0 对这些代谢物

参与的代谢通路进行分析,发现共有 7 种代谢通路发生了明显的变化,包括丙酮酸代通路(乳酸、丙酮酸、甲酸和乙酸),精氨酸/脯氨酸通路(丙酮酸、鸟氨酸、肌酸、肌酸酐和尿素),苯丙氨酸通路(苯丙氨酸、酪氨酸、马尿酸、氨基马尿酸和丙酮酸),赖氨酸降解通路(赖氨酸和甘氨酸),甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸通路(甘氨酸、肌酸和丙酮酸),二羧酸通路(柠檬酸、丙酮酸和甲酸)及三羧酸循环(丙酮酸和柠檬酸)等,详见图 6 和表 2。



注:●为对照组;●为异常黑胆质证组。

图 4 PLS-DA 分析得分图及排列验证试验结果

Note. ●, the healthy control group. ●, the abnormal Savda syndrome group.

Fig. 4 Results of PLS-DA analysis score chart and arrangement verification test

表 1 异常黑胆质证大鼠与对照组比较尿液中差异性代谢物及其相关系数(*r*)

Tab.1 Comparison of the urinary metabolites and their correlation coefficients between abnormal

Savda syndrome group and healthy control group			
代谢物 Metabolites	化学位移 Chemical sheft	归属 Assignment	<i>r</i> 值 <i>r</i> value
1 丙酸酯 Propionate	1. 17(t)	CH ₃	-0.92
2 乳酸 Lactic acid	1. 32(d) ,4. 10(q)	CH ₃ ,CH	-0.85
3 丙氨酸 Alanine	1. 47(d) ,3. 76(q)	CH ₃ . CH	-0.83
4 赖氨酸 Lysine	1. 84(m)	CH ₂	-0.91
5 乙酸 Acetic acid	1. 91(s)	CH ₃	-0.77
6 乙酰胺 Acetamide	1. 99(s)	CH ₃	-0.82
7 糖蛋白 Glycoprotein	2. 02(s)	CH ₃	-0.74
8 丙酮 Acetone	2. 20(s)	CH ₃	-0.91
9 丙酮酸 Pyruvic acid	2. 39(s)	CH ₃	-0.84
10 α - 酮戊二酸 Ketoglutaric acid	2. 44(t) ,3. 00 (t)	CH ₂ ,CH ₂	0.78
11 柠檬酸 Citric acid	2. 53(d) ,2. 71(d)	CH ₂ ,CH ₂	0.90
12 甲胍 Bethanidine	2. 81(s)	CH ₃	-0.86
13 肌氨酸 Sarcosin	2. 90(s)	CH ₃	-0.72
14 鸟氨酸 Ornithine	3. 06(t)	CH ₂	-0.85
15 甘氨酸 Glycine	3. 53(s)	CH ₂	-0.74
16 肌酸 Creatine	3. 93(s)	CH ₂	-0.81
17 肌酸酐 Creatinine	4. 03(s)	CH ₂	-0.85
18 肌胺酸酐 Aminoanhydride	4. 29(s)	CH ₂	-0.88
19 β - 半乳糖 β-galactose	4. 55(d)	H1	-0.90
20 尿囊素 Allantoin	5. 38(s)	CH	0.93
21 尿素 Urea	5. 76(s)	NH ₂	0.94
22 尿刊酸酯 Urocanate	6. 37(d)	CH(COO)	-0.91
23 酪氨酸 Tyrosine	6. 87(d) ,7. 17(d)	H3/H5 , H2/H6	-0.92
24 苯丙氨酸 Phenylalanine	7. 33(m) ,7. 38(m) ,7. 41(m)	H2/H6 ,H4 ,H3/H5	-0.96
25 马尿酸 Hyppuric acid	7. 47(t) ,7. 55(t) ,7. 87(d)	H3/H5 , H4 ,H2/H6	-0.95
26 氨基马尿酸 Aminohippuric acid	7. 68(d) @@	H2/H6	-0.77
27 甲酸 Formic acid	8. 45(s)	CH	-0.74

注: s 为单峰,d 为双重峰,t 为三重峰,q 为四重峰,m 为多重峰。
Note. s, single peak. d, double peak. t, triple peak. q, quadruple peak. m, multiple peak.

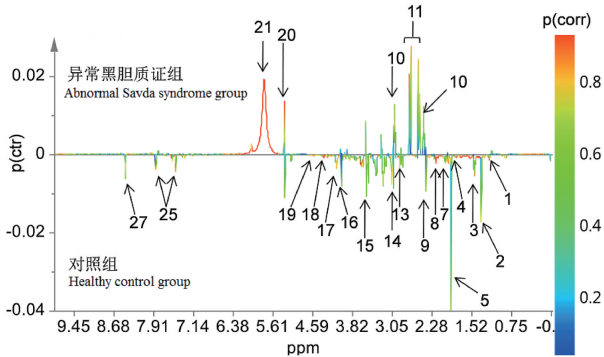


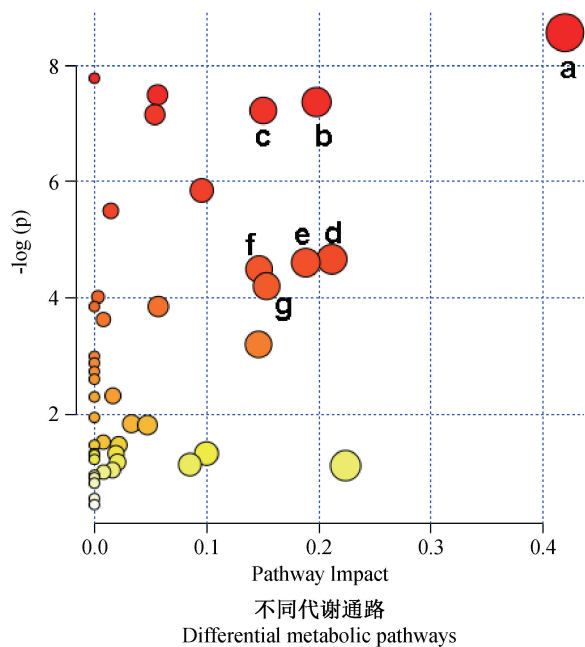
图 5 OPLS-DA 分析相关系数图

Fig.5 Graph of OPLS-DA analysis of correlation coefficients

表 2 差异性代谢物参与的代谢通路及其影响因子

Tab.2 Metabolic pathways in which differential metabolites are involved and their influencing factors

差异性代谢通路 Differential metabolic pathways	影响因子 Influencing factors	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
丙酮酸代谢通路 Pyruvate metabolic pathway	0.4196	0.000
精氨酸/脯氨酸代谢通路 Arginine / proline metabolic pathway	0.1980	0.001
苯丙氨酸代谢通路 Phenylalanine metabolic pathway	0.1506	0.001
赖氨酸降解通路 Lysine degradation pathway	0.2118	0.009
甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢通路 Glycine / Serine / threonine metabolic pathway	0.1885	0.010
二羧酸代谢通路 Dicarboxylate metabolic pathway	0.1469	0.011
三羧酸循环 Krebs cycle	0.1535	0.015



注:a. 丙酮酸代谢通路;b. 精氨酸/脯氨酸代谢通路;c. 苯丙氨酸代谢通路;d. 赖氨酸降解通路;e. 甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢通路;f. 二羧酸代谢通路;g. 三羧酸循环。

图6 对照组与异常黑胆质证大鼠尿液差异性代谢物相关的代谢通路

Note. a, Pyruvate metabolic pathway. b, Arginine/proline metabolic pathway. c, Phenylalanine metabolic pathway. d, Lysine degradation pathway. e, Glycine/serine/threonine metabolic pathway. f, Dicarboxylate metabolic pathway. g, Krebs cycle

Fig. 6 The differential metabolic pathways between the healthy control group and abnormal Savda syndrome group

3 结论

本研究结果证明,异常黑胆质导致模型组大鼠尿液代谢物成分明显变化,这些代谢物主要参与大鼠体内的7种代谢通路,包括丙酮酸通路、精氨酸/脯氨酸通路、苯丙氨酸通路、赖氨酸降解通路、甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸通路、二羧酸通路及三羧酸循环等。

3.1 丙酮酸代谢通路

本研究中发现的与丙酮酸代谢通路相关的代谢物有乳酸、丙酮酸、甲酸和乙酸的4种代谢物,其在模型组大鼠尿液中的含量明显降低。丙酮酸位于能量代谢关键途径的交叉点,这是糖酵解的最终产物和糖异生的出发点,并可以通过转氨基作用生成丙氨酸;也可以由丙酮酸脱氢酶复合物转化为乙酰辅酶A并进入三羧酸循环,也可以作为长链脂肪酸和酮体的起始点。体内氨的转运,降低乳酸含量和加强糖异生等方面丙氨酸也有较强的作用。丙

酮酸羧化酶和丙酮酸脱氢酶是三羧酸循环中与丙酮酸代谢相关的主要代谢酶,这两种酶的活性变化可能在异常黑胆质证发生、发展过程中体内能量代谢变化的关键所在。

3.2 精氨酸/脯氨酸代谢通路

是精氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、瓜氨酸和谷氨酸共同的代谢通道,其中鸟氨酸处在这个代谢通道中的关键位置,是瓜氨酸和精氨酸的主要来源,而精氨酸是一种条件必需氨基酸,具有多种作用,包括提供氮源,改善免疫功能,促进淋巴细胞增殖、分化及合成细胞因子,维护肠黏膜完整性等^[4],同时也是合成肌酸与磷酸肌酸的主要前体。在肝细胞鸟氨酸主要参与尿素循环,也参与谷氨酸、谷氨酰胺和脯氨酸的生物合成。本研究结果显示,异常黑胆质证模型大鼠尿液中与精氨酸/脯氨酸代谢通路相关的多种代谢物含量明显降低,而尿素含量明显升高。尿素循环主要在肝脏中进行,是由精氨酸通过精氨酸酶水解后产生,可见,异常黑胆质与肝脏尿素循环相关,这与维吾尔医学体液论所阐述的“体液发生于肝脏”^[2]这个论断有一定的相符性。尿液肌酸酐含量的变化是肾功能的主要指标之一^[5],本研究结果显示,异常黑胆质证的发生与发展可能伴随肾脏功能的异常。

3.3 苯丙氨酸代谢通路

合成细胞蛋白质、变成苯丙酮酸、合成酪氨酸等途径是苯丙氨酸主要的3条代谢路径。多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素等神经递质的主要来源是苯丙氨酸的代谢产物之一的酪氨酸。在前期研究中发现,异常黑胆质导致神经-内分泌-免疫网络异常^[6],这可能与苯丙氨酸代谢同路的异常相关。苯丙氨酸代谢通路中的马尿酸的主要来源之一是苯甲酸和甘氨酸,肠道菌群直接分解苯甲酸生成马尿酸。

3.4 赖氨酸降解通路

赖氨酸主要分布在肝脏,经过代谢最终进入到脂肪酸代谢通道并参与到弹性蛋白和胶原蛋白的合成,也是体内肉碱的主要来源之一,体内约25%的肉碱是由赖氨酸和蛋氨酸在肝、肾和脑中合成。肉碱通过运送线粒体膜外的脂酰CoA进入线粒体内而发挥增加脂肪的动员和分解,肉碱脂酰转移酶I是这个运输过程的关键限速酶。可见,异常黑胆质证大鼠体内赖氨酸含量的降低可能与赖氨酸代谢通路中的肉碱脂酰转移酶I的活性变化相关。

3.5 甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢通路

是多种氨基酸的生物合成或降解的主要通道,包括甘氨酸、丝氨酸、半胱氨酸和苏氨酸等。通道中的甘氨酸和丝氨酸通过多种通路合成,而甘氨酸得主要来源之一是丝氨酸,催化反应的是丝氨酸羟甲基转移酶。丝氨酸进入三羧酸循环是由丝氨酸脱水酶的作用下进行。甘氨酸是中枢神经系统的抑制性神经递质,其含量的变化可能与异常黑胆质导致的神经-内分泌-免疫网络功能异常相关。

3.6 二羧酸/三羧酸代谢通路

本研究发现,二羧酸/三羧酸代谢通路中的丙酮酸和甲酸在异常黑胆质证大鼠尿液中的含量明显降低,证明异常黑胆质证与体内能量消耗的增加密切相关。但是,异常黑胆质证模型大鼠尿液中与三羧酸循环密切相关的柠檬酸和 α -酮戊二酸等 2 种代谢物含量明显升高。三羧酸循环中 α -酮戊二酸被烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)氧化并释放 ATP 变成琥珀酸,同时 NAD^+ 变成还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)。因此, NAD^+/NADH 的活性在柠檬酸和 α -酮戊二酸的进一步氧化过程中起到关键作用。 NAD/NADH 水平会在药物、环境、化学物质等的作用下降低,从而抑制细胞生长和分化,诱导自由基产生和细胞凋亡。研究结果显示, NAD^+/NADH 活性升高可以明显延缓衰老、改善线粒体能量代谢水平^[7-8]。因此,异常黑胆质证发生、发展过程中的 NAD^+/NADH 活性变化机制需进一步研究。

此外,异常黑胆质证模型大鼠尿液中糖蛋白含量明显降低。糖蛋白与丙氨酸共同维持免疫功能的正常作用^[9],可见,其含量的下降可能与免疫功能的下降相关。

研究结果显示,模型组大鼠在异常黑胆质证发生、发展过程中不但发生外在表形的明显变化而且也发生了内在多种代谢通路的明显变化,导致尿液代谢产物的明显异常。这些代谢产物相关的代谢通路主要与能量代谢、肠道菌群平衡、肝脏与肾脏功能及免疫功能等有关,这可能与异常黑胆质证的生物学机制密切相关。

参 考 文 献(References)

- [1] 买买提·努尔艾合提,厉蓓,董竞成,等. 维吾尔族传统医学异常黑胆质证的研究概况 [J]. 中国民族医药杂志, 2013, 19(2): 44-49.

Mammat Nurahmat, Li B, Dong JC. Survey of studies on abnormal Savda syndrome in traditional Uighur medicine [J]. J

Med Pharm Chin Minorities, 2013, 19(2): 44-49.

- [2] 买买提明·沙比尔. 维吾尔医学诊断学 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993: 135-148.
- Maimaitiming Sabir. Diagnostics of Uighur medicine [M]. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 1993: 135-148.
- [3] 巴哈古力·阿卜都热合曼, 阿布力克木·毛拉尤甫, 买吾拉尼江·依孜布拉, 等. 异常黑胆质证 2 型糖尿病大鼠模型的血浆代谢组学研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(8): 16-21.
- Bahaguli Abudurehman, Abulikemu Maolayoufu, Mawlanjan Hizbilla, et al. Plasma metabonomic study of abnormal Savda rat model with type 2 diabetes [J]. Chin J Comp Med, 2017, 27(8): 16-21.
- [4] 陈亚军, 齐玉梅. 精氨酸免疫营养作用的研究进展 [J]. 中国临床营养杂志, 2007, 15(5): 310-314.
- Chen YJ, Qi YM. Research advancement of arginine in immunonutrition [J]. Chin J Clin Nutrition, 2007, 15(5): 310-314.
- [5] 马青山, 王茜, 赵凯殊, 等. UPLC-MS/MS 法测定高尿酸血症大鼠血清及尿液中的尿酸和肌酐 [J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(12): 2716-2720.
- Ma QS, Wang Q, Zhao KS, et al. UPLC-MS/MS method for determination of uric acid and creatinine in serum and urine of hyperuricemic mice [J]. Chem J Chin Univ, 2013, 34(12): 2716-2720.
- [6] 黄静静, 阿衣古丽·玉努斯, 努尔比亚·吾布, 等. 异常黑胆质证神经-内分泌-免疫紊乱与趋化因子的关系 [J]. 新疆医科大学学报, 2013, 36(5): 567-573.
- Huang JJ, Ayiguli Yunusi, Nuerbiya Wubu, et al. The relationship between disorder of neuro-endocrine-immune network in abnormal Savda Hilit and chemokines [J]. J Xinjiang Med Univ, 2013, 36(5): 567-573.
- [7] 郭志新, McNeill JH. N-乙酰半胱氨酸对糖尿病大鼠肾脏 NADPH 氧化酶表达的影响 [J]. 中国糖尿病杂志, 2008, 16(9): 544-547.
- Guo ZX, McNeill JH. Effect of N-acetylcysteine on the expression of renal NADPH oxidase in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Chin J Diabetes, 2008, 16(9): 544-547.
- [8] 洪华, 曾进胜, 王莹, 等. 阿托伐他汀对大鼠缺血再灌注脑组织中 NADPH 氧化酶源性超氧阴离子的抑制作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(7): 1345-1350.
- Hong H, Zeng JS, Wang Y, et al. Inhibitive action of atorvastatin on NADPH oxidase-derived superoxide anion in ischemic brain tissue after reperfusion in rats [J]. Chin J Pathophysiol, 2008, 24(7): 1345-1350.
- [9] 陈宜镇, 陈宏. 蛋白质与临床 [M]. 福州: 蓝盾出版社. 2004: 70-71.
- Chen YZ, Chen H. Protein and clinical [M]. Fuzhou: Landun Press. 2004: 70-71.