

# 异常黑胆质型UC病证大鼠血清的核磁共振代谢组学

麦日排提·阿卜杜拉, 阿吉古丽·努尔买买提, 古丽尼沙·莫沙, 张景萍, 库热西·玉努斯

**背景资料**  
溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病因及发病机制不明的, 病程迁延不愈, 长达十几年甚至几十年, 亦有发生癌变的可能性. 流行病学资料显示, UC 的发病率在国内外都有逐年上升的趋势. 根据维吾尔医学的传统理论, 对于不同疾病的诊断和治疗主要是依据不同体液的不同状态来进行的, 而血液代谢组主要反应机体的营养和能量代谢状态, 对血液等代谢组进行检测和分析, 就有可能对异常体液质型疾病发生和发展过程伴随的生物化学变化进行了解和认识. 使维吾尔医学关于疾病诊断和治疗的理论体系得到发展和认可.

麦日排提·阿卜杜拉, 阿吉古丽·努尔买买提, 古丽尼沙·莫沙, 张景萍, 库热西·玉努斯, 新疆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

麦日排提·阿卜杜拉, 在读硕士, 主要从事维吾尔医药与分子生物学研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81060310

作者贡献分布: 此课题由库热西·玉努斯设计; 研究过程由麦日排提·阿卜杜拉、阿吉古丽·努尔买买提及古丽尼沙·莫沙操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由库热西·玉努斯与张景萍提供; 数据分析与论文写作由麦日排提·阿卜杜拉完成.

通讯作者: 库热西·玉努斯, 教授, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新医路393号, 新疆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室. kurax8824@sina.com

电话: 0991-4362703

收稿日期: 2014-09-13 修回日期: 2014-10-20

接受日期: 2014-11-05 在线出版日期: 2014-12-18

## NMR metabonomics of serum in a rat model of abnormal savda disease carrying ulcerative colitis

Mairipaiti·Abudula, Ajiguli·Nuermaimaiti, Gulinisha·Mosha, Jing-Ping Zhang, Kurexi·Yunusi

Mairipaiti·Abudula, Ajiguli·Nuermaimaiti, Gulinisha·Mosha, Jing-Ping Zhang, Kurexi·Yunusi, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81060310

Correspondence to: Kurexi·Yunusi, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, 393 Xinyi Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. kurax8824@sina.com

Received: 2014-09-13 Revised: 2014-10-20

Accepted: 2014-11-05 Published online: 2014-12-18

## Abstract

**AIM:** To develop a rat model of abnormal savda disease carrying ulcerative colitis (UC), and to identify serum markers by applying the nuclear magnetic resonance (NMR)-based metabolomics technology.

**METHODS:** According to the theory of traditional Uyghur medicine, a rat model of abnormal savda syndrome was established, and on this basis, UC was induced with 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) and acetic acid.

<sup>1</sup>H NMR based metabolomics analysis was performed using serum samples from different groups of animals. Biomarkers accounting for the metabolic signature perturbation were then identified.

**RESULTS:** Compared with normal rats, lactate, acetone, acetoacetate,  $\beta$ -hydroxybutyrate, carnitine, alanine, and formic acid were increased, and  $\alpha$ -glucose,  $\beta$ -glucose, creatine, low density lipoprotein (LDL), pyruvate, methionine, and glutamine were reduced in serum of rats with simple UC;  $\alpha$ -ketoglutarate, acetone, acetoacetate,  $\beta$ -hydroxybutyrate, and formic acid were increased, and very low density lipoprotein (VLVD), methyl-histidine, pyruvate, and glutamine were reduced in serum of abnormal savda disease carrying UC rats. Compared with rats with simple UC, lactate, acetoacetate,  $\alpha$ -glucose,  $\beta$ -glucose, creatine, LDL, and formic acid were increased, and citric acid was reduced in serum of abnormal savda disease carrying UC rats.

**CONCLUSION:** The metabolites in sera of UC rats, abnormal savda disease carrying UC rats and normal rats are significantly different. Dysregulation of lipid metabolism is the common pathophysiological process of simple UC and abnormal savda disease carrying UC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Traditional Uyghur medicine; Abnormal savda disease; Ulcerative colitis; Nuclear magnetic resonance; Metabolomics

Mairipaiti·Abudula, Ajiguli·Nuermaimaiti, Gulinisha·Mosha, Zhang JP, Kurexi·Yunusi. NMR metabonomics of serum in a rat model of abnormal savda disease carrying ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(35): 5414-5421 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5414.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i35.5414>

## 摘要

目的: 在维吾尔医学体液论的指导下建立异

**同行评议者**  
刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

常黑胆质型溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)病证大鼠模型, 应用基于核磁共振的代谢组学技术, 对UC模型组大鼠、异常黑胆质型UC病证组大鼠以及正常组大鼠血清的代谢组分进行分析并判断差异性小分子标志物。

**方法:** 按照维吾尔医学理论知识建立维医异常黑胆质证大鼠模型, 在此基础上采用2,4-二硝基氯苯复合乙酸法建立异常黑胆质型UC病证大鼠模型, 对其血清进行核磁共振氢谱检测, 获得各组大鼠血清中的差异性代谢成分。

**结果:** 与正常组相比, UC模型组大鼠血清中乳酸、丙酮、乙酰乙酸、 $\beta$ -羟丁酸、肉碱、丙氨酸、甲酸含量升高, 而 $\beta$ -葡萄糖、 $\alpha$ -葡萄糖、肌酸、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、丙酮酸、蛋氨酸、谷氨酰胺含量降低; 异常黑胆质型UC病证组大鼠血清中 $\alpha$ -酮戊二酸、丙酮、乙酰乙酸、 $\beta$ -羟丁酸、甲酸含量升高, 而极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、甲基组氨酸、丙酮酸、谷氨酰胺含量降低。与UC模型组相比, 异常黑胆质型UC病证组大鼠血清中乳酸、乙酰乙酸、 $\beta$ -葡萄糖、 $\alpha$ -葡萄糖、肌酸、LDL、甲酸的含量升高, 而柠檬酸含量降低。

**结论:** UC模型组、异常黑胆质型UC病证组、正常组大鼠血清间存在差异代谢组分; 脂代谢紊乱是UC模型组和异常黑胆质型UC病证组大鼠共同的病理生理过程。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 维吾尔医学; 异常黑胆质证; 溃疡性结肠炎; 核磁共振; 代谢组学

**核心提示:** 本研究在维医理论的基础上建立异常黑胆质证载体和异常黑胆质型溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)病证载体动物模型, 应用NMR技术对其血清进行代谢组学研究, 拟从代谢组分的差异变化中分析异常黑胆质证与UC的关系, 分析差异代谢组分参与的生物化学反应, 探讨异常黑胆质证与UC病证发生、发展过程的内在联系。

麦日排提·阿卜杜拉, 阿吉古丽·努尔买买提, 古丽尼沙·莫沙, 张景萍, 库热西·玉努斯. 异常黑胆质型UC病证大鼠血清的核磁共振代谢组学. 世界华人消化杂志 2014; 22(35): 5414-5421  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5414.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i35.5414>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因及发病机制不明的, 主要累及直肠、结肠黏膜的慢性非特异性炎症, 临床上主要表现为腹痛、腹泻、黏液血便、里急后重, 病程迁延不愈, 长达十几年甚至几十年, 亦有发生癌变的可能性<sup>[1,2]</sup>. 流行病学资料显示, UC的发病率在国内外都有逐年上升的趋势<sup>[3,4]</sup>.

维吾尔医学作为中国传统医学在UC等疾病的认识和治疗方面拥有独特的理论. 作为维医理论核心的体液论是维医认识人体正常生理功能和异常病理变化的主要理论依据. 体液论认为体液是人体摄入的营养物质在生成体液的各器官和腺体的作用下形成的, 能在体内特殊部位储存、能被机体所转化的, 为人体生命活动提供物质基础的复杂液体总称. 根据颜色、属性、功能不同分为4种体液质, 即胆液质体液(sapra)、血液质体液(kan)、黏液质体液(bel-hem)和黑胆质体液(savda)<sup>[5,6]</sup>. 根据异常体液质变化的程度、作用及引起的症状和导致的疾病类型不同, 将异常体液质分为异常血液质(abnormal kan)、异常黏液质(abnormal belghem)、异常胆液质(abnormal sapra)和异常黑胆质(abnormal savda)等4种, 尤其异常黑胆质的增加是体液发生异常变化的主要特征<sup>[6]</sup>. 在维吾尔医学里, 异常黑胆质也是导致很多慢性疾病发生发展的主要因素<sup>[7]</sup>.

代谢组学与维医的基本论相符, 都是从整体水平探索体液的平衡状态或代谢紊乱后疾病的产生机理在代谢组中的具体表现<sup>[8]</sup>. 代谢组学是研究代谢组在某一时刻细胞内所有小分子代谢物的集合的一门学科, 更多的反映细胞所处的环境, 根据代谢物可以更好的推测生物体病理和生理状态的代谢情况. 体液中的代谢物质与细胞、组织和整体水平的生物化学状态密切相关, 内环境的任何变化都会引起体液中代谢物质发生显著变化, 而尿液和血液代谢组包含了机体内每一个细胞的代谢信息<sup>[9-11]</sup>. 因此用代谢组学来说明疾病的发生、发展具有更加客观、科学的理论依据<sup>[12]</sup>. 异常体液即可作为疾病的诱因使机体代谢过程紊乱, 从而生成并积累各种具有致病性质的病理性物质; 又可作为新的致病因素, 进一步促进恶性进程<sup>[6,13-15]</sup>. 根据维吾尔医学的传统理论, 对于不同疾病的诊断和治疗主要是依据不同体液的不同状态来进行

**研发前沿**  
近十几年来, 对UC的发病机制与治疗均围绕地区人群、肠道有益菌、神经-内分泌-免疫网络、细胞凋亡、炎症学说、基因组学等诸多方面开展了系统的研究工作, 而代谢组学的研究相对较少. 因此通过代谢组学研究UC的发生、发展备受关注。

**相关报道**  
研究发现UC模型组和异常黑胆质型UC病证组大鼠血清中丙酮酸含量明显下降,提示溃疡性结肠炎发生时,丙酮酸可能作为一种过氧化氢清除剂,在防止自由基损伤肠黏膜过程中被大量消耗,导致血浆中丙酮酸含量下降。

的<sup>[6]</sup>,而血液代谢组主要反应机体的营养和能量代谢状态,对血液等代谢组进行检测和分析,就有可能对异常体液质型疾病发生和发展过程伴随的生物化学变化进行了解和认识,使维吾尔医学关于疾病诊断和治疗的理论体系得到发展和认可。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康的SPF级♂Wistar大鼠20只,体重160-200 g,由新疆医科大学动物实验中心提供。干寒属性饲料:每公斤普通大鼠饲料中以7:3的比例加入相等比例的大麦和苘荳籽,然后制成颗粒状干饲料,委托自治区实验动物中心加工。苘荳籽:药性二级干寒,长期使用体内易生成异常黑胆质体液。大麦:药性一级干寒,长期使用体内易生成异常黑胆质体液。2,4-二硝基氯苯(2,4-dinitrochlorobenzene, DNCB)、重水(D<sub>2</sub>O)(美国Sigma公司)、磷酸二氢钠(NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)、磷酸氢二钾(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)、丙酮、乙酸、生理盐水、无水乙醇、液体石蜡(均为国产分析纯)。FLI-2000HT型人工气候箱,电击笼,一次性采血针,人体静脉血样采集容器(分离胶/促凝胶),5 mm核磁管,-80℃超低温冰箱(美国Thermo公司),超速低温离心机(德国Eppendorf公司),INOVA600型核磁共振波谱仪(美国VARIAN公司),Topspin2.0软件(德国Bruker公司),SIMCA-P+11软件(瑞典Umetrics公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 动物分组:**适应性饲养1 wk后,按完全随机分组方法将20只Wistar大鼠随机分为正常组(6只)、UC模型组(8只)、异常黑胆质型UC病证组(6只),分笼喂养。正常组在室温25℃±3℃、相对湿度60%-80%下用普通饲料,随机饮食水,未受任何刺激。

**1.2.2 动物模型的建立:**异常黑胆质证大鼠模型的建立:异常黑胆质型UC病证组:按照文献和维吾尔医学体液论<sup>[16-20]</sup>,以下多因素复合作用3 wk。(1)干寒饲养环境:按照文献和维吾尔医学体液论,采用人工气候箱(温度6℃±1℃,相对湿度25%-32.8%),每日12:00 am-10:00 pm将动物置于人工气候箱中;(2)干寒属性饲料:喂养方法依照文献并稍加改进,每笼动物供给饲料300 g/d、高压灭菌蒸馏水600 mL/d;(3)间断足底电刺激:第1周30 min/次、电压35 V、1次/d;第2周35 min/次、电压40 V、1次/d;第3周45 min/次、

电压45 V、1次/d;(4)制动:第1周45 min/次、1次/d;第2周60 min/次、1次/d;第3周90 min/次、1次/d;(5)强迫游泳:水温20℃±5℃,1次/d,第1周3 min/次,第2、3周5 min/次。

UC大鼠模型的建立:UC模型组和异常黑胆质性UC病证组:颈背部脱毛,每天用2%的DNCB丙酮液滴背,每次0.25 mL,持续用14 d,于第15天用直径3 mm的导管(导管总长8 cm,导管头端3 cm打小孔,使液体均匀分布于结肠)经肛门插入大鼠结肠内5-8 cm左右注入0.1%的DNCB乙醇液0.25 mL,第16天同法灌6%的乙酸2 mL,作用15 s后立即注入生理盐水5 mL冲洗,以消除乙酸的刺激作用(灌肠前禁食24 h,自由饮水)。异常黑胆质性UC病证组造模刺激保持第2周的强度。

**1.2.3 取材:**动物处死前,用乙醚进行麻醉,从腹主动脉采血,放入分离胶促凝采血管,4℃以3000 r/min的速度离心15 min,取上清液(血清)放入EP管中,置于-80℃低温冰箱中保存至进行检测。

**1.2.4 样品的配制与核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H-NMR)检测:**血清缓冲溶液的配制:以100 mL为例,重水(20 mL)、蒸馏水(80 mL)、NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(0.141 g)、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(0.827 g)、NaCl(0.9 g)。

待测样品的配制:在4℃下解冻血清样品,将400 μL的缓冲溶液加入200 μL血清中,常温放置10 min,4℃以10000 r/min的速度离心10 min。取550 μL上清液加入到5 mm核磁管中待测。已配好的样品保置于4℃冰箱内,测试前15 min取出置于常温下,上样前用纸巾擦干核磁管外壁。

血清的<sup>1</sup>H-NMR检测:在25℃的测试温度下用INOVA600型核磁共振波谱仪调用CPMG脉冲序列进行氢谱测定。谱宽设定为10000 Hz,采样点数32 k,累积扫描次数为64次,每次扫描时间为1.64 s,采取预饱和方法抑制水峰,饱和时间为2 s。同一谱仪上获得所有的<sup>1</sup>H NMR谱。为了有利于解谱工作,对谱图质量较高的样品进行核磁共振二维谱测试。

**1.2.5 <sup>1</sup>H-NMR图谱及数据处理和分析:**测试完成后将数据导入Topspin2.0软件,进行基线及相位校正,以α-葡萄糖化学位移5.233 mg/L的质子信号为标准进行定标。在9.0-0.5 ppm的区域内,积分区间设为0.003 ppm,进行自动积分。积分数据导入到Excel表内并去除掉5.23-4.66 ppm水峰区

表 1 异常黑胆质证模型动物体质量测定值比较 (mean ± SD, g)

分组	异常黑胆质型UC病证组	正常组	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
第3天	265.920 ± 24.498	266.500 ± 22.029	0.002	0.966
第7天	258.200 ± 10.708	271.020 ± 18.889	2.091	0.179
第14天	257.120 ± 7.069	291.180 ± 19.605	16.032	0.003
第21天	268.320 ± 3.491	311.470 ± 21.644	23.243	0.001

UC: 溃疡性结肠炎.

表 2 正常组-UC模型对照组-异常黑胆质型UC病证组大鼠结肠分级

分组	<i>n</i>	0级	1级	2级	3级	4级
正常组	6	6	0	0	0	0
UC模型组	8	0	1	2	3	4
异常黑胆质型UC病证组	6	0	1	1	0	4

UC: 溃疡性结肠炎.

域的积分值, 并进行归一化处理. 数据导入SIM-CA-P+11软件进行OPLS-DA(正交偏最小二乘判别分析)并对不同组大鼠血清NMR数据进行模式识别分析, 得到所建立模型质量评价的指标: 优化程度( $R^2X$ )、反应变量 $Y$ 的变异百分比( $R^2Y$ )和预计结果的真实性( $Q^2$ ). 通过代谢物相关系数确定不同组大鼠血清的差异性代谢成分, 检验标准为 $P = 0.05$ . 通过皮尔森相关系数显著性差异检测确定代谢物含量变化是否具有显著性的阈值, 相关系数绝对值大于显著性的阈值, 即当最小样本数为6时, 显著性阈值 $|r| > 0.707$ 则表示代谢物在统计学上有显著性差异( $P < 0.05$ ). 此外, 相关系数绝对值越接近于1表示其差异性越大, 反之越小.

**统计学处理** 用SPSS17.0统计软件对动物实验各组数据进行统计学处理, 计量资料以mean ± SD表示, 等级资料用秩和检验, 显著性界值为0.05.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 异常黑胆质证模型组与正常组的比较** 异常黑胆质证模型组与正常组大鼠相比, 舌干暗紫有瘀斑、皮肤毛发暗淡无光泽、卷缩少动、易怒、反应迟钝、倦怠嗜睡、互相争食、互相争水、大便干燥、体质量增量下降. 随造模时间延长, 正常组与异常黑胆质证模型组体质量增量速度有差异, 造模14 d以后两组之间的差异有

统计学意义( $P < 0.05$ )(表1).

**2.2 异常黑胆质型UC病证组、UC模型对照组及正常组大鼠结肠大体观察** 肉眼观察结肠黏膜损伤程度, 将其可分为0级(无损伤)、1级(轻度充血、水肿, 表面光滑, 无糜烂或溃疡)、2级(充血水肿, 黏膜粗糙呈颗粒感, 有糜烂或肠黏连)、3级(黏膜充血水肿, 表面有坏死及溃疡形成, 大纵径 $< 1$  cm, 肠壁增厚或表面有坏死及炎症)、4级(高度充血水肿, 黏膜坏死及溃疡形成, 溃疡最大纵径 $\geq 1$  cm, 或全壁结肠坏死、中毒性巨结肠导致死亡). 正常组大鼠结肠黏膜损伤程度都为0级, 而UC模型组与异常黑胆质型UC病证组大鼠结肠黏膜损伤很严重, 大多为4级(表2).

异常黑胆质型UC病证组与正常组相比, UC模型组与正常组相比大鼠结肠损伤程度比较差异均存在统计学意义( $P < 0.05$ ), 但异常黑胆质型UC病证组与UC模型组相比大鼠结肠黏膜损伤程度差异无统计学意义( $P > 0.05$ ).

**2.3 各组大鼠血清 $^1H$ -NMR谱** 正常组、UC模型组、异常黑胆质型UC病证组的血清 $^1H$ -NMR谱. 将3组血清代谢物两两进行比较, 有3种情况(UC模型组与正常组、异常黑胆质型UC病证组与UC模型组、异常黑胆质型UC病证组与正常组)(图1).

## 2.4 模式识别分析

**2.4.1 不同大鼠血清两两比较OPLS-DA分析结**

### 创新盘点

维医对疾病辨证分型的出发点是机体内在代谢差异的外在表现, 这与代谢组学的基本观点相同. 目前已从形态学、基因水平、免疫炎症相关因子等方面对UC的发病机制进行了一定的阐述, 但有关异常黑胆质型UC病证的代谢组学方面尚未见研究报道. 因此用代谢组学研究手段探讨异常黑胆质证与UC间的关系及异常黑胆质型UC病证的发生、发展的机制, 具有更加客观和更加科学的特点.

## 应用要点

UC的发病机制目前尚不明确,目前普遍认为其发病是环境因素、饮食(辛辣食物、烟酒)、精神因素、遗传因素等多种因素相互作用的结果。其中环境因素和精神状态是UC发病的重要诱因,这与维吾尔医学认为外在因素影响机体内部平衡而引起疾病的观点相符。因此以维吾尔医学为指导,分析及探索UC的发病机制具有一定的科学性和合理性。

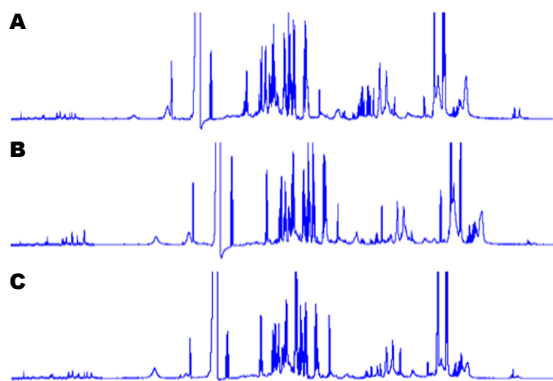


图1 各组血清样本 $^1\text{H}$ -NMR谱. A: 正常组; B: UC模型组; C: 异常黑胆汁型UC病证组. UC: 溃疡性结肠炎.  $^1\text{H}$ -NMR: 核磁共振氢谱.

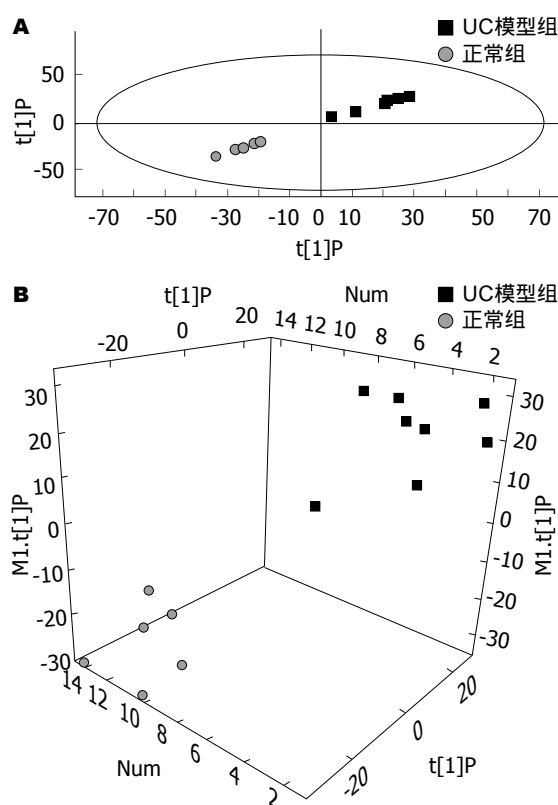


图2 UC模型组与正常组OPLS-DA平面分布和空间分布. UC: 溃疡性结肠炎.

果: OPLS-DA的分析结果具有进一步扩大被判别有差异性的代谢物范围的特点<sup>[21]</sup>. 血清代谢物含量比较OPLS-DA分析结果显示, 主成分积分值集中分布于椭圆形散点图(95%置信区间内)的四个区域, 各组间血清代谢物含量存在明显差异, 可以相互区分, 每两组之间无交叉和重叠(图2-4).

2.4.2 各组血清代谢差异组分比较: 两组比较中差异性代谢组分相关系数为正值代谢组分是

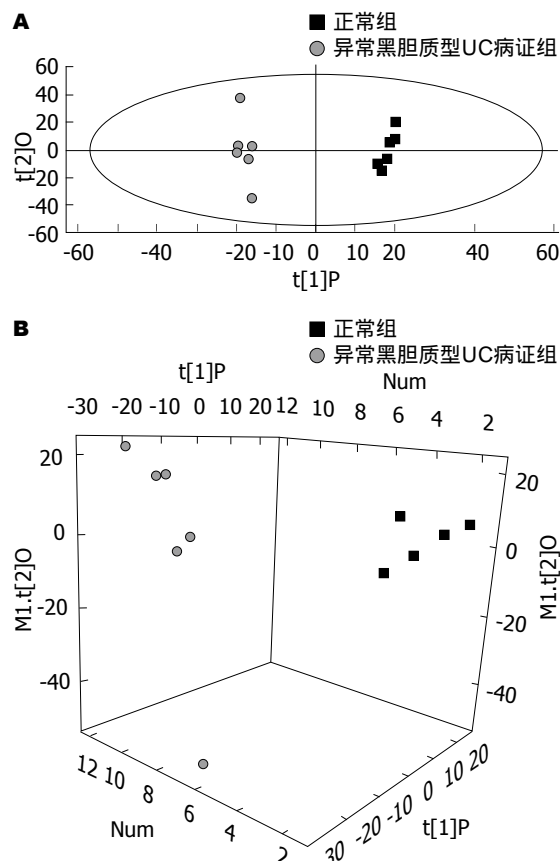


图3 正常组与异常黑胆汁型UC病证组OPLS-DA平面分布和空间分布. A: 两组的OPLS-DA平面分布; B: 两组的OPLS-DA空间分布. UC: 溃疡性结肠炎.

在某一组中升高的代谢组分, 相关系数为负值的代谢组分是在另一组中降低的代谢组分.

分别将UC模型组和异常黑胆汁型UC病证组与正常组相比, UC模型组大鼠血清中乳酸、丙氨酸、丙酮、乙酰乙酸、 $\beta$ -羟丁酸、肉碱、甲酸的浓度升高, 而 $\beta$ -葡萄糖、 $\alpha$ -葡萄糖、肌酸、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、蛋氨酸、丙酮酸、谷氨酰胺的浓度下降; 异常黑胆汁型UC病证组大鼠血清中 $\alpha$ -酮戊二酸、丙酮、乙酰乙酸、 $\beta$ -羟丁酸、甲酸的浓度升高, 而极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)、甲基组氨酸、丙酮酸、谷氨酰胺的浓度降低. 与UC模型组相比, 异常黑胆汁型UC病证组大鼠血清中柠檬酸的浓度降低, 而乳酸、乙酰乙酸、 $\beta$ -葡萄糖、 $\alpha$ -葡萄糖、肌酸、LDL、甲酸浓度升高(表3).

## 3 讨论

与正常组相比, UC模型组和异常黑胆汁型UC病证组大鼠血清中丙酮、乙酰乙酸、 $\beta$ -羟丁

表 3 各组大鼠血清<sup>1</sup>H-NMR谱经过OPLS-DA分析获得的主要差异性代谢物及其相关系数

序号	代谢组分	归属	化学位移 (mg/L)	正常组与异常黑胆质型UC病证组		
				正常组与UC模型组	UC模型组与异常黑胆质型UC病证组	
				R <sup>2</sup> X	0.241	0.511
				Q <sup>2</sup>	0.757	0.594
1	乳酸	1.32(d), 4.11(q)	CH <sub>3</sub> , CH	0.74		-0.86
2	丙氨酸	1.47(d)	CH <sub>3</sub>	0.71		
3	肌酸	3.92(s)	CH <sub>2</sub>	-0.86		-0.78
4	甲基组氨酸	7.05(s)	H <sub>4</sub>		0.82	
5	丙酮	2.22(s)	CH <sub>3</sub>	0.85	-0.88	
6	乙酰乙酸	2.27(s)	CH <sub>3</sub>	0.93	-0.89	-0.76
7	β-羟丁酸	2.29(dd), 2.41(dd)	half α-CH <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub>	0.93	-0.94	
8	肉碱	2.44(q)	CH <sub>2</sub> (COO)	0.82		
9	脂类(LDL)	4.24(m), 1.26(m)	CH <sub>2</sub> OCOR,	-0.75		-0.79
10	脂类(VLDL)	0.85(m), 0.88(m), 1.27(m)	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>		0.74	
			CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> , CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C, = CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>			
			0.74			
11	丙酮酸	2.38(s)	CH <sub>3</sub>	-0.94	0.96	
12	β-葡萄糖	3.49(t), 3.89(dd), 4.64(d)	C-H <sub>3</sub> , half CH <sub>2</sub> - CH <sub>6</sub> , C-H <sub>1</sub>	-0.81		-0.87
13	α-葡萄糖	3.53(dd), 3.73(dd), 5.23(d)	C-H <sub>2</sub> , half CH <sub>2</sub> - CH <sub>6</sub> , C-H <sub>1</sub>	-0.86		-0.78
14	柠檬酸	2.52(d), 2.67(d)	half-CH <sub>2</sub> , half- CH <sub>2</sub>			0.76
15	α-酮戊二酸	3.00(t)	β-CH <sub>2</sub>		-0.71	
16	谷氨酰胺	3.76(m), 2.14(m), 2.42(m)	α-CH, half β-CH <sub>2</sub> , half γ-CH <sub>2</sub>	-0.79	0.71	
17	甲酸	8.44(s)	CH	0.82	-0.92	

s: 单峰; d: 双重峰; t: 三重峰; q: 四重峰; m: 多重峰; dd: 双重双重峰; ddd: 双重双重双重峰. UC: 溃疡性结肠炎.

酸含量增加. 丙酮、乙酰乙酸、β-羟丁酸统称为酮体, 是脂肪酸在肝细胞线粒体中进行分解代谢(β-氧化)所生成的特殊中间产物, 酮体分子在肝细胞生成后进入血液循环. 一般情况下, 酮体在肝外组织很快被氧化, 正常血液中酮体含量极少, 这是因为体内正常情况下利用葡萄糖的氧化供能获得能量. 但在某些生理情况(饥饿、禁食)或病理情况下(如UC), 糖代谢受阻, 脂肪动员增强, 从而脂肪酸β-氧化的产物-酮体的生成就会增加. 若肝中合成酮体的量超过肝外组织利用酮体的能力, 二者之间失去平衡, 血中酮体浓度就会过高<sup>[22]</sup>. UC模型组和异常黑胆质型UC病证组大鼠血清中谷氨酰胺含量低, 血清中谷氨酰胺水平下降预示机体抗氧化能力下降, 细胞膜受到损伤、免疫力下降、机体受自由基伤害加深, 使氧化损伤加剧<sup>[23]</sup>. 丙酮酸可通过乙酰辅酶A和三羧酸循环实现体内糖、

脂肪和氨基酸间的互相转化, 在三大营养物质的代谢联系中起着重要的枢纽作用. 研究表明, 丙酮酸可作为一种抗氧化剂抑制鼠体内氧自由基的氧化作用. 丙酮酸可直接通过非酶促的去碳酸基反应抑制过氧化氢, 他可直接与氧自由基反应生成水和二氧化碳, 并间接增加抗氧化剂即还原型谷胱甘肽的含量, 进而增强谷胱甘肽抗氧化系统的功能<sup>[24]</sup>. 本研究中UC模型组和异常黑胆质型UC病证组大鼠血清中丙酮酸含量明显下降, 提示溃疡性结肠炎发生时, 丙酮酸可能作为一种过氧化氢清除剂, 在防止自由基损伤肠黏膜过程中被大量消耗, 导致血浆中丙酮酸含量下降<sup>[25]</sup>. 适当增加丙氨酸和丙酮酸的供给可能有利于UC康复<sup>[26]</sup>. 丙酮酸是一种重要的α-酮酸, 也是糖酵解的中间产物, 当组织细胞处于相对缺氧状态时, 丙酮酸可在胞浆中还原成乳酸, 这也有可能是机体乳酸含量升高

**名词解释**  
UC: 是一种病因及发病机制不明的, 主要累及直肠、结肠黏膜的慢性非特异性炎症. 临床上主要表现为腹痛、腹泻、黏液血便、里急后重, 病程迁延不愈, 长达十几年甚至几十年, 亦有发生癌变的可能性.

**同行评价**  
本研究在维吾尔医学体液论的指导下建立异常黑胆质型溃疡性结肠炎大鼠模型,应用基于核磁共振的代谢组学技术,对UC模型组大鼠、异常黑胆质型UC病证组大鼠以及正常组大鼠血清的代谢组分进行分析并判断差异性分子标志物。结果发现UC模型组、异常黑胆质型UC病证组、正常组大鼠血清间存在差异代谢组分;脂代谢紊乱是UC模型组和异常黑胆质型UC病证组大鼠共同的病理生理过程,为进一步深入研究奠定了科学基础。

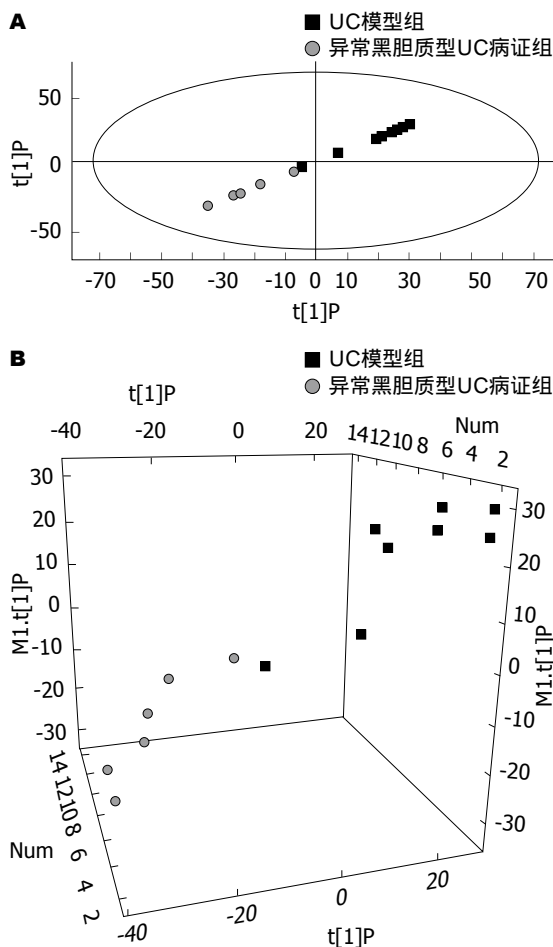


图4 UC模型组与异常黑胆质型UC病证组OPLS-DA平面分布和空间分布。A: 两组的OPLS-DA平面分布; B: 两组的OPLS-DA空间分布。UC: 溃疡性结肠炎。

的原因。

此外, UC模型组大鼠血清中葡萄糖含量比正常组大鼠低,但是乳酸含量却增加,说明UC模型组大鼠体内的糖酵解过程比正常组大鼠强,大量的葡萄糖在糖酵解中被消耗。动物处在缺氧状态下,葡萄糖的有氧氧化被抑制,而糖酵解过程则加强,产生大量的乳酸。正常情况,肠屏障能阻止肠道内细菌及其分解产物经肠壁扩散至机体内<sup>[27]</sup>。结肠黏膜组织是肠道黏膜的机械屏障,当结肠黏膜受损致肠黏膜通透性增加时<sup>[28]</sup>,肠道中的大量乳酸通过受损的结肠黏膜进入血中,使血中乳酸水平升高。因此血清中的乳酸浓度可反映肠黏膜通透性变化,具体表现为肠黏膜受损。肌酸是能量储存与利用的重要化合物,不仅可以快速提供能量,还能增加力量,增长肌肉,疲劳恢复<sup>[29]</sup>, UC模型组大鼠消瘦、软弱,消瘦可能与肌酸含量降低有关。与正常组相比,异常黑胆质型UC病证组大鼠血清中

甲基组氨酸含量明显降低,甲基组氨酸作为鹅肌肽的前体物质大量存在于肌肉中,是由S-腺酰甘氨酸的甲基转移到组氨酸上生成的,是生物体内糖酵解和三羧酸循环的衍生物,其含量的下降表明体内糖酵解和三羧酸循环代谢紊乱<sup>[30]</sup>。

#### 4 参考文献

- Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults. American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 204-211 [PMID: 9040192]
- Eaden J, Abrams K, Ekbom A, Jackson E, Mayberry J. Colorectal cancer prevention in ulcerative colitis: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 145-153 [PMID: 10651654 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2000.00698.x]
- Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10218 ulcerative colitis cases in China. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 158-161 [PMID: 11833094]
- 赵琛, 张树辉, 吴焕淦, 崔云华, 周次利. 溃疡性结肠炎基因多态性的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3711-3714
- 穆巴拉克, 派祖拉, 亚尔买买提. 维吾尔医学中关于体液的探索. *中国民族民间医药杂志* 2002; (2): 69-70
- 哈木拉提·吾甫尔. 维医气质、体液论及其现代研究. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2003
- 哈木托提·吾甫尔, 阿不都热依木·玉素甫, 努尔买买提·艾买提. 维吾尔医异常黑胆质新论. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2009
- 张辰辰, 孙立新. 基于代谢组学的细胞内源性代谢物研究进展. *药理学报* 2012; 47: 978-985
- 巴吐尔·买买提明, 阿仙姑·哈斯木, 陈春丽, 哈木拉提·吾甫尔. 基于不同模式识别方法的大鼠尿液核磁共振氢谱分析. *新疆医科大学学报* 2010; 3: 755-761
- Fanea L, Fagan AJ. Review: magnetic resonance imaging techniques in ophthalmology. *Mol Vis* 2012; 18: 2538-2560 [PMID: 23112569]
- Mulkey SB, Yap VL, Swearingen CJ, Riggins MS, Kaiser JR, Schaefer GB. Quantitative cranial magnetic resonance imaging in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatr Neurol* 2012; 47: 101-108 [PMID: 22759685 DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2012.05.009]
- Souba WW. Glutamine metabolism in catabolic state: Role of the intestinal tract. Boston, Mass: Department of Nutritional Biochemistry. Harvard School of Public Health, 1984
- 艾斯克尔·吐拉洪, 哈木拉提·吾甫尔, 豪富华, 巴吐尔·买买提明. 基于NMR的维吾尔医异常黑胆质型肿瘤患者血浆代谢组学分析. *科技导报* 2009; 27: 27-31
- 帕丽旦·麦麦提, 甫拉提·吐尔逊. 维吾尔医异常黑胆质型糖尿病病证模型代谢组学研究. 新疆: 新疆医科大学, 2011
- 李智杰, 张荣. 型糖尿病患者中医辨证分型与脂质代谢的关系探讨. *山西中医* 1999; 15: 20
- 库热西江·托乎提, 阿不都热依木·玉苏甫, 哈木拉提·吾甫尔, 买买提沙力·曼苏尔阿吉. 维吾尔医正常体液与异常体液分型比较研究. *中国民族医药杂志* 2004; 10: 3-4
- 哈木拉提·吾甫尔, 胡汉华, 努尔买买提·艾买提, 阿衣努尔, 阿迪力江. 维吾尔医异常黑胆质载体动物模型

- 下丘脑-垂体-肾上腺轴细胞超微结构的改变. 中国中医药科技 2008; 15: 249-250
- 18 张莉, 哈木拉提·吾甫尔, 胡尔西旦·尼可孜, 努尔买买提·艾买提, 阿迪力·阿不力米提, 战秀华. 异常黑胆质载体动物肿瘤模型的建立及其神经内分泌免疫指标的改变. 国际病理科学与临床杂志 2007; 27: 376-381
- 19 哈木拉提·吾甫尔, 阿依努尔·买提斯迪克, 努尔买买提·艾买提, 阿迪力·阿不力米提. 异常黑胆质证载体动物模型的建立及其自然恢复反证. 新疆医科大学学报 2006; 29: 910-914
- 20 张有辉, 玉苏甫·吐尔逊, 哈木拉提·吾甫尔, 阿不都卡德尔·库尔班, 阿布力孜·阿卜杜扎依尔, 斯坎德尔·白克力. 异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期免疫、内分泌紊乱状态. 科技导报 2010; 28: 39-42
- 21 严兴海, 巴吐尔·买买提明, 李春燕, 杨娜, 由丽娜, 哈木拉提·吾甫尔. 基于核磁共振的肾虚痰瘀型哮喘患者血浆的代谢组学研究. 新疆医科大学学报 2010; 33: 228-233
- 22 周爱儒, 查锡良. 生物化学. 北京: 人民卫生出版社, 2004
- 23 阿不都热依木·玉素甫, 李林, 哈木拉提·吾甫尔, 吐尔逊·吾甫尔, 哈丽达·艾山, 巴克·玉素甫. 维医异常体液分型与年龄、性别及氧化-抗氧化系统关系的研究. 中国中医基础医学杂志 2004; 8: 61-62
- 24 Ioachim EE, Katsanos KH, Michael MC, Tsianos EV, Agnantis NJ. Immunohistochemical expression of cyclin D1, cyclin E, p21/waf1 and p27/kip1 in inflammatory bowel disease: correlation with other cell-cycle-related proteins (Rb, p53, ki-67 and PCNA) and clinicopathological features. *Int J Colorectal Dis* 2004; 19: 325-333 [PMID: 15060836 DOI: 10.1007/s00384-003-0571-3]
- 25 努尔比亚·吾布力, 库热西·玉努斯, 买买提卡斯木·吾布力艾山, 连静静, 哈木拉提·吾甫尔. 大鼠溃疡性结肠炎的代谢组学研究. 新疆医科大学学报 2010; 33: 593-596
- 26 连晶晶, 库热西·玉努斯. 溃结安干预UC大鼠的代谢组学及人结肠癌HT-29细胞的细胞凋亡研究. 新疆医科大学, 2010
- 27 袁耀宗, 汤玉茗. 重视肠屏障功能的研究. 中华消化杂志 2006; 26: 577-578
- 28 陈冬梅, 雷国锋, 彭维林. 血浆D-乳酸水平与新生儿坏死性小肠结肠炎预后的关系. 中国围产医学杂志 2011; 14: 583-585
- 29 尤丽, 巴吐尔·买买提明, 哈木拉提·吾甫尔. 基于核磁共振的肾虚痰瘀型2型糖尿病患者血清代谢组学研究. 科技导报 2012; 30: 25-29
- 30 艾尔肯·塔西铁木尔, 伊力哈木江·依马木, 帕它木·莫合买提, 热比亚·努力. 维吾尔族青少年发病的成人型糖尿病家系成员血清代谢组学研究. 中华内分泌代谢杂志 2012; 28: 11-15

编辑 韦元涛 电编 都珍珍

