

基于 NMR 的维吾尔医异常黑胆质型糖尿病代谢组学研究

毛新民¹, 郎俊², 马晓丽³, 李琳琳², 韩雪², 哈木拉提·吾甫尔¹, 吐尔洪·吐送⁴, 库尔班·艾力⁴,
巴吐尔·买买提明³, 库热西·玉努斯², 王丽凤², 焦谊², 王焯², 易金阳²

1. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011
2. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011
3. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011
4. 新疆医科大学维吾尔医药学院, 乌鲁木齐 830011

摘要 研究异常黑胆质型糖尿病患者体内物质代谢变化的规律。采用基于核磁共振(NMR)测定技术对异常黑胆质型糖尿病患者和黑胆质血糖正常者尿液进行检测,使用正交偏最小二乘法判别(Orthogonal Partial Least-Squares Discriminant Analysis, O-PLS-DA)分析研究尿液内源性化合物在两组间的差异。结果显示,异常黑胆质型糖尿病患者尿液中的代谢物发生了明显的变化。其中葡萄糖、牛磺酸和甜菜碱的含量增加,与黑胆质血糖正常组比较差异有统计学意义($P<0.05$);同时多种氨基酸、肌酸酐、尿酸盐、柠檬酸和二甲胺等含量减少,与黑胆质血糖正常组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。总之,基于 NMR 的代谢组学技术和标志物信息均显示异常黑胆质型糖尿病患者和黑胆质血糖正常者存在代谢差异,提示体内某些小分子化合物可能正是维吾尔医异常黑胆质型糖尿病的物质基础。

关键词 异常黑胆质;代谢组学;2型糖尿病

中图分类号 R29

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.23.009

Metabonomic Investigation on Abnormal Savda Patients with Type Two Diabetes Mellitus Using NMR Spectroscopy

MA Xinmin¹, LANG Jun², MA Xiaoli³, LI Linlin², HAN Xue², UPUR Halmurat¹, TURSUN Turgun⁴, ELI Kurban⁴,
MAMTIMIN Batur³, YUNUXI Kuresi², WANG Lifeng², JIAO Yi², WANG Ye², YI Jinyang²

1. College of Chinese Traditional Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
2. Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
3. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
4. College of Uighur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract Based on the theory of Traditional Uighur Medicine, the metabolites changes in the urine of patients of type two diabetes mellitus with abnormal savda are investigated. ¹H Nuclear Magnetic Resonance (NMR) based metabonomic analysis is performed on the urine samples obtained from both abnormal savda patients of type two diabetes mellitus and savda volunteers with normal plasma glucose. The Orthogonal Partial Least-Squares Discriminant Analysis (OPLS-DA) is conducted to distinguish the metabolic phenotypes. The results show that the metabolites in the urine of the patients of type two diabetes mellitus with abnormal savda are significantly changed. The concentrations of glucose, taurine, and betaine are increased ($P<0.05$); Meanwhile, the concentrations of some amino acids, creatinine, hippurate, citric acid, and dimethylamine are decreased ($P<0.05$) comparing with savda volunteers with normal plasma glucose. The fact indicates that there are great differences in the urine metabolites between the patients of type two diabetes mellitus with abnormal savda and savda volunteers with normal plasma glucose by using NMR. And it also reveals that endogenous compounds might

收稿日期: 2012-05-15; 修回日期: 2012-06-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(30960469)

作者简介: 毛新民, 教授, 研究方向为糖尿病的发病机制及新药研发, 电子邮箱: mxm3277@sina.com

be the ingredients for the patients of type two diabetes mellitus with abnormal savda.

Keywords abnormal savda; metabonomics; type two diabetes mellitus

0 引言

维吾尔医学是祖国传统医学的重要组成部分,体液论是维吾尔医的理论基石,黑胆质作为正常体液之一,与其他三种正常体液(胆液质、血液质、黏液质)处于动态平衡从而发挥正常的生理功能。当机体受到某些病理因素或长时间处于不良环境时,黑胆质被“燃烧”积聚产生异常黑胆质。异常体液在体内长期聚集,未能及时清除,就会很容易导致异常黑胆质型疾病,如肿瘤、高血压、哮喘、糖尿病等。

目前临床上对异常黑胆质的分型都是以望、闻、问、切四诊所获得的信息判断而得,针对异常黑胆质的阶段选择相应的成熟剂和清除剂,使“体液”复原达到治疗目的,因此,准确的异常黑胆质体液分型显得尤为重要。利用先进的科学技术和手段对异常黑胆质型糖尿病患者进行区分研究将会对维吾尔医体液论在疾病的诊断、治疗和预防中起到重要的作用。

代谢组学是采用化学分析技术结合化学计量学方法,分析生物体内源性代谢物质的动态变化,描绘生物体代谢轮廓,从而研究生物体整体性代谢变化情况的一门新兴学科^[1]。当体内代谢出现紊乱性变化时,往往会在尿液和血液等体液的代谢组中得到表现,维吾尔医学体液学说主张的异常体液出现过程与以上代谢组学理论相似。所以,通过测试异常体液所包含的特异性代谢产物有可能推断出异常体液发生的机制。

本研究以异常黑胆质型糖尿病患者为研究对象,采用核磁共振(NMR)技术测定患者尿液代谢物成分及相对含量,结合正交偏最小二乘法判别(Orthogonal Partial Least-Squares Discriminant Analysis, OPLS-DA)方法分析维吾尔医异常黑胆质型糖尿病患者组、异常黑胆质血糖正常组和黑胆质血糖正常组尿液代谢物的¹H-NMR图谱,找到差异性代谢组分,揭示异常黑胆质型糖尿病的证候本质。

1 材料与方法

1.1 诊断标准

(1) 西医糖尿病的诊断标准依照2011年美国糖尿病协会制定的糖尿病诊断标准^[2]。(2) 异常黑胆质的诊断标准,由维吾尔医专家根据《维吾尔医学诊断学》进行维吾尔医异常体液分型^[3]。

1.2 纳入标准

(1) 符合西医糖尿病的诊断标准并符合维吾尔医诊断标准的异常黑胆质型糖尿病患者、异常黑胆质血糖正常者和黑胆质血糖正常者。(2) 2型糖尿病:空腹血糖(Fasting Plasma Glucose FPG)≥7.0mmol/L,空腹血糖正常者(Normal Plasma Glucose NPG)/FPG≤5.5mmol/L。(3) 入选年龄≥18岁。(4) 入选对象均签署知情同意书。

1.3 排除标准

(1) 自报有糖尿病病史,并且在抽血化验前虽然空腹,但已服用降糖药物。(2) 妊娠期妇女。(3) 近期使用过抗生素。(4) 有精神病史及药物滥用史。(5) 患有泌尿系统疾病。(6) 有明显肝肾功能损害,血液系统及其他传染性疾病。

1.4 临床资料

实验样本共97例(29例黑胆质血糖正常者,36例异常黑胆质血糖正常者,32例异常黑胆质型糖尿病患者)均来自新疆医科大学糖尿病研究组2007—2010年在库车县、和田地区的于田县及策勒县、塔城地区的流行病学调查。其中维吾尔族、哈萨克族要求三代血亲均为本民族血统。

1.5 研究方法

1.5.1 仪器,试剂

核磁共振波谱仪(600MHz,美国Varian公司);重水Deuteriumoxide(D₂O,美国Cambridge Isotop Laboratories公司);低温离心机(德国Eppendorf股份公司);3-(甲基硅基)氘代丙酸钠(美国Sigma公司);K₂HPO₄·3H₂O和NaH₂PO₄·2H₂O(天津市光复精细化工研究所);-80℃超低温冰箱(中国海尔公司);Millipore水纯化系统(美国Millipore公司);核磁共振波谱仪工作站(美国Varian公司);Topspin 2.0软件(德国Bruker公司);SIMCA-P+11软件(瑞典Umetrics公司)。

1.5.2 样本的采集

收集早餐前空腹尿液,将收集到的尿液存于50mL接尿管(内加1mL浓度为1%NaN₃溶液)中,在4℃下以3000r/min,离心10min,取上清液保存于-80℃低温冰箱中待测。

1.5.3 尿液样品的处理

每个尿液样本各取400μL,每个样本加入200μL含0.05% TSP的重水配制的磷酸缓冲液(K₂HPO₄/NaH₂PO₄,1.5mol/L,pH=7.4)中,室温放置10min以10000r/min离心10min,取上清液550μL放入5mm核磁管。在Varian 600MHz谱仪上采集样品的一维核磁共振氢谱(¹H-NMR)谱图。

1.5.4 NMR数据采集、预处理

采用预饱和的1DNOESY脉冲序列采集尿液样本的数据,取如下参数谱宽:8000Hz,混合时间0.155s,驰豫延迟时间25s,采样点数32k,累加次数64次;在驰豫延迟和混合期间采用预饱和方式压制水峰,饱和时间为2s,谱宽10000Hz,采样点数32768k,扫描次数为128次,每次扫描时间为1.638s,实验温度300K。所有的谱都在同一谱仪上获得。此次实验样品的¹H-NMR谱全部用Topspin 2.0软件进行手动基线及相位调整。实验样本的¹H-NMR谱以TSP峰作为化学位移参考峰,将此位置设为0ppm,然后对化学位移从0.5ppm到9ppm之间每隔0.003ppm进行一次自动分段积分。将积分值以文本形式保存且导入Excel表内。在导入积分值的Excel表中,删

去 4.72—5.15ppm 区段间的积分值,以消除残留水信号对分析结果的影响。对上述处理好的样本进行归一化处理,减少不同样本浓度差异所致的误差。

1.5.5 模式识别分析

利用 SIMCA-P+11 软件进行偏最小二乘法判别分析 (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA) 以区分组间尿液样品代谢物是否有差异。差异性代谢成分的判断要进一步采用正交偏最小二乘法分析判别。本研究通过代谢物相关系数确定黑胆质血糖正常者与异常黑胆质型糖尿病患者的差异性代谢成分,检验标准为 $P=0.05$ 。通过皮尔森相关系数显著性差异检测 (Pearson's product moment correlation coefficient) 确定 0.355 作为代谢物含量变化是否具有显著性

的阈值 ($n=30$),相关系数 $|r|>0.355$ 所代表的代谢物是统计学上具有显著性差异 ($P<0.05$) 的代谢物, $|r|$ 值越大表示差异性越大,反之越小。

2 结果与分析

2.1 黑胆质血糖正常人、异常黑胆质血糖正常者和异常黑胆质型糖尿病尿液的 $^1\text{H-NMR}$ 谱

各组尿液的典型 $^1\text{H-NMR}$ 谱如图 1 所示。在各组尿液 $^1\text{H-NMR}$ 可以发现很多内源性的代谢产物,如氨基酸和葡萄糖。这些物质存在于多种生化过程中,比如糖代谢、能量代谢和氨基酸代谢,所以其氢谱图可以作为化学指纹用来描述异常黑胆质糖尿病、异常黑胆质血糖正常及黑胆质血糖正常者尿液中内源代谢产物的变化。

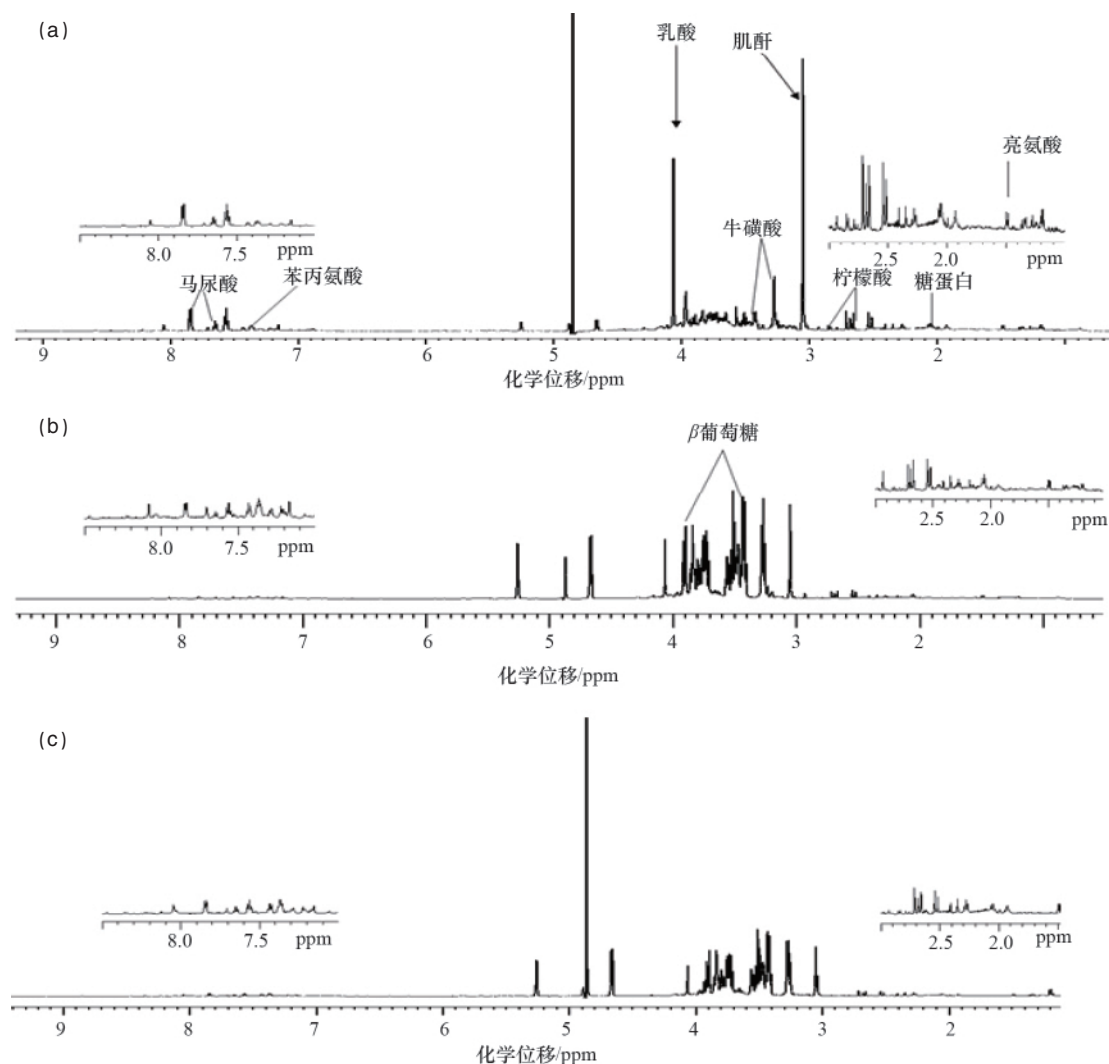


图 1 黑胆质血糖正常者(a)、异常黑胆质型糖尿病患者(b)和异常黑胆质血糖正常者(c)尿液的典型 $^1\text{H-NMR}$ 谱图

Fig. 1 $^1\text{H-NMR}$ spectra of urine samples from savda volunteers with normal plasma glucose (a), patients of type two diabetes mellitus with abnormal savda (b) and abnormal savda volunteers with normal plasma glucose (c)

2.2 模式识别分析

对异常黑胆质型糖尿病患者、异常黑胆质血糖正常者和黑胆质血糖正常者尿液的 $^1\text{H-NMR}$ 谱 (NOESY 脉冲序列) 进

行分段积分,得到的积分值再经过数据的归一化处理,之后进行 PLS-DA 模式识别分析,所得的得分图如图 2 所示。得分图显示的是对异常黑胆质型糖尿病组、异常黑胆质血糖正

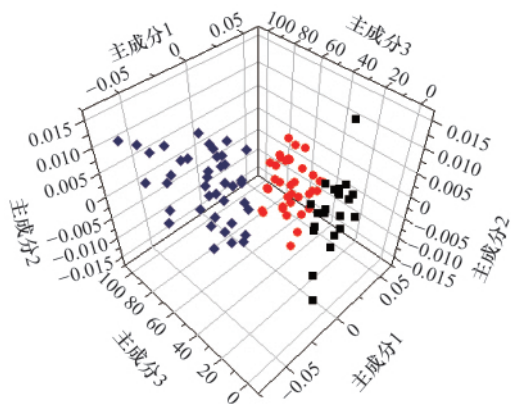


图2 异常黑胆质型糖尿病组(◆),异常黑胆质血糖正常组(●)和黑胆质血糖正常组(■)尿液 PLS-DA 得分图
Fig. 2 The score plot of PLS-DA of urine samples from the patients group of type two diabetes mellitus with abnormal savda (◆), abnormal savda volunteers group with normal plasma glucose group (●) and savda volunteers group with normal plasma glucose (■)

常组和黑胆质血糖正常组三组间分类的信息,在图中每一个点代表一例样本。

由图2可知,三组之间基本可以分开,利用 PLS-DA 模式识别可以很好地解释从正常体液血糖正常转变为异常体液血糖正常,进而发展成为异常黑胆质型糖尿病的过程。为了进一步寻找引起体液转变的生物标志物,本实验利用 OPLS-DA 进行两组间差异化合物的分析比较。

图3和图4分别是异常黑胆质型糖尿病与异常黑胆质血糖正常组,异常黑胆质型糖尿病与黑胆质血糖正常组尿液

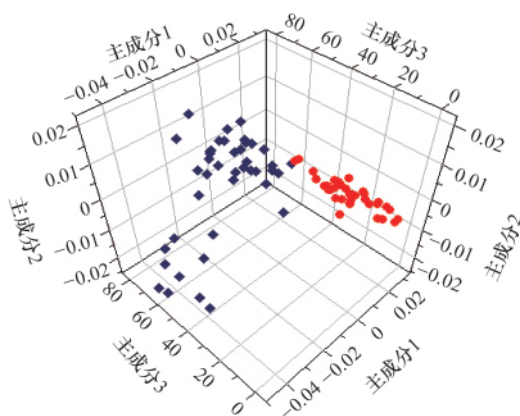


图3 异常黑胆质型糖尿病组(◆)和异常黑胆质血糖正常组(●)尿液 OPLS-DA 得分图
Fig. 3 The score plot of OPLS-DA of urine samples from the patients group of type two diabetes mellitus with abnormal savda (◆) and abnormal savda volunteers group with normal plasma glucose (●)

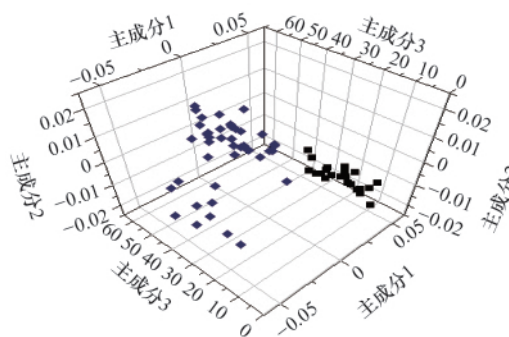


图4 异常黑胆质型糖尿病组(◆)和黑胆质血糖正常组(■)尿液 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 The score plot of OPLS-DA of urine samples from the patients group of type two diabetes mellitus with abnormal savda (◆) and savda volunteers group with normal plasma glucose (■)

¹H-NMR 谱的 OPLS-DA 模式识别分析得分图。从图中可以看出异常黑胆质型糖尿病与异常黑胆质血糖正常组能完全分离开,说明两组间代谢物有显著性差异,同样的结果,也出现在异常黑胆质型糖尿病与异常黑胆质血糖正常组尿液 ¹H-NMR 谱的 OPLS-DA 模式识别分析结果中。

2.3 代谢成分分析

为了进一步分析引起组间类别差异的特征峰,找出异常黑胆质糖尿病的特征代谢物,笔者给出黑胆质血糖正常组与异常黑胆质型糖尿病组 OPLS-DA 负载图,如图5所示。

从 OPLS-DA 负载图(图5)可以看出,异常黑胆质型糖尿病患者的可能差异代谢物为糖蛋白、柠檬酸、二甲胺、 β -葡萄糖、 α -葡萄糖、马尿酸、苯丙氨酸等。下面将与异常黑胆质型糖尿病相关的可能代谢物列在表1中。

进一步运用 OPLS-DA 分析,得到异常黑胆质型糖尿病组与黑胆质血糖正常组两组比较的差异性代谢物相关系数,从结果可知两组尿液多种代谢组分有显著性差异。若差异性代谢物相关系数为正值,则表示该化合物在黑胆质血糖正常组中含量升高,而该化合物在异常黑胆质型糖尿病组含量降低;若差异性代谢物相关系数为负值,则表示该化合物在异常黑胆质型糖尿病组中含量升高,而该化合物在黑胆质血糖正常组含量降低,结果见表1。

由表1可知,异常黑胆质型糖尿病患者尿液中多种氨基酸含量显著下降(包括亮氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、色氨酸),与黑胆质血糖正常者相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。此外,糖蛋白、柠檬酸、乳酸、胆碱、肌酸酐含量也显著下降,与黑胆质血糖正常者相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时,异常黑胆质型糖尿病患者尿液中 α -葡萄糖和 β -葡萄糖、牛磺酸、甜菜碱含量明显增加,与黑胆质血糖正常者相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。根据 KEGG 库寻找到与其相关的代谢途径,认为异常黑胆质型糖尿病患者与

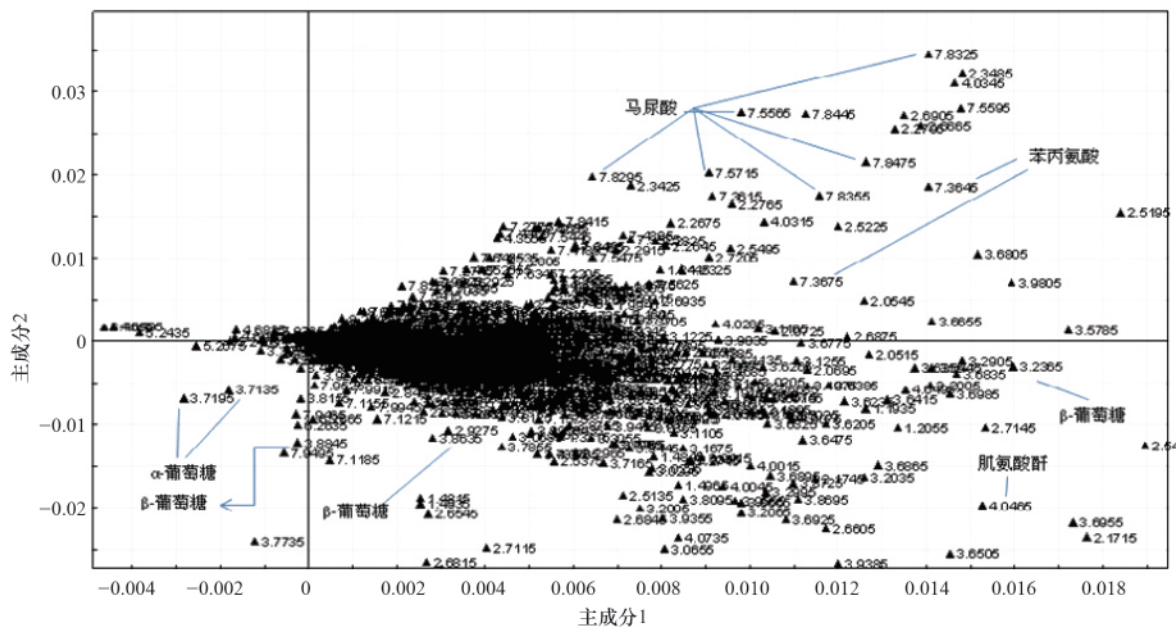


图 5 黑胆质血糖正常组和异常黑胆质糖尿病组尿液 OPLS-DA 负载图

Fig. 5 The loading plot of OPLS-DA of urine samples from savda volunteers with normal plasma glucose group and the patients group of type two diabetes mellitus abnormal with abnormal savda

表 1 尿液中主要差异性代谢产物两组比较结果及其相关系数

Table 1 Otherness metabolites and their correlation coefficients of the urine samples from savda volunteers with normal plasma glucose group and the patients group of type two diabetes mellitus abnormal with abnormal savda

差异代谢物	黑胆质血糖正常者组与异常黑胆质型糖尿病患者组			
	趋势	相关系数	化学位移	归属
1 异亮氨酸	↑	0.586	0.93(t), 1.00(d)	δ -CH ₃ , β -CH ₃
2 亮氨酸	↑	0.54	0.95(d), 0.97(d), 1.71(m)	δ -CH ₃ , δ -CH ₃ , β -CH ₂
3 缬氨酸	↑	0.49	0.98(d), 1.03(d), 3.60(d)	CH ₃ , CH ₃ , α -CH ₂
4 乳酸	↑	0.57	1.32(d), 4.11(q)	CH ₃ , CH
5 丙氨酸	↑	0.48	1.47(d)	CH ₃
6 糖蛋白	↑	0.69	2.03(s)	NHCO-CH ₃
7 丙酮	↑	0.64	2.36(s)	CH ₃
8 肌酸酐	↑	0.63	2.22(s)	CH ₃
9 胆碱	↑	0.71	3.05(s), 4.05(s)	CH ₃ , CH ₂
10 柠檬酸	↑	0.54	3.26(q)	CH ₂ (COO)
11 α -葡萄糖	↓	-0.71	2.53(d), 2.67(d)	half-CH ₂ , half-CH ₂
12 β -葡萄糖	↓	-0.67	3.53(dd), 3.72(dd), 3.76(dd)	C-H ₂ , C-H ₃ , H ₂ /H ₆ , C-H ₅
13 二甲胺	↑	0.65	2.73(s)	NH-CH ₃
14 马尿酸	↑	0.52	7.55, 7.84	CH ₂
15 甜菜碱	↓	-0.41	3.29, 3.85	
16 组氨酸	↑	0.64	3.27(d)	
17 苯丙氨酸	↑	0.79	3.14(dd), 3.98(dd)	Half-CH ₂ , α -CH
18 色氨酸	↑	0.46	3.96(dd), 7.32(m), 7.37(m), 7.42(m)	α -CHH ₂ /H ₆ H ₄ H ₃ H ₅
19 牛磺酸	↓	-0.55	7.22(t), 7.28(t)	H ₃ /H ₆

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, dd 为双重双重峰。

Notes: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet; dd, doublet of doublets.

黑胆质血糖正常者相比, 异常黑胆质型糖尿病主要存在糖代谢、能量代谢、氨基酸代谢等差异。

3 讨论

维吾尔医是中国传统医学的重要组成部分。它的核心理

论是四大物质学说,即火、气、水、土是构成自然界的四种基本物质;以四种基本物质为基础,形成四种正常体液(黑胆质、血液质、黏液质和胆液质)即体液论(它是维吾尔医重要的基础理论之一)。四种正常的体液在体内处于动态平衡的状态,使得人体各种正常的生理活动有序进行,人体处在健康状态。但是当健康的机体长期受到外界不良因素(环境、生活方式、精神状态等)的影响与刺激时,四种正常的体液的质和量就会发生变化,形成四种异常体液(异常黑胆质、异常血液质、异常黏液质、异常胆液质),此时的机体正处在亚健康状态,如果在此阶段,能及时的给予维吾尔医的成熟剂和清除剂,将异常体液及时地去除,就能有效地阻止异常体液性疾病的发生和发展。

维吾尔医对糖尿病的辨证分型分为正常体液血糖正常,异常体液血糖正常,异常体液型糖尿病。正常体液血糖正常包括:黑胆质血糖正常、血液质血糖正常、黏液质血糖正常、胆液质血糖正常。异常体液血糖正常包括:异常黑胆质血糖正常、异常血液质糖尿病、异常黏液质血糖正常和异常胆液质血糖正常。异常体液型糖尿病包括:异常黑胆质型糖尿病、异常血液质型糖尿病、异常黏液质型糖尿病和异常黑胆质型糖尿病。在以往的维吾尔医对糖尿病辨证分型中^[4],各异常体液型糖尿病的分布趋势为异常黑胆质型糖尿病患者数>异常黏液质型糖尿病患者数>异常血液质型糖尿病患者数>异常胆液质型糖尿病患者数。在本研究中,各异常体液型糖尿病的分布趋势与此前一致。由此也应证了异常黑胆质(质表示维吾尔医的证)在临床复杂性疾病中较为常见,且作为重要证型其具有普遍存在性^[5]。

维吾尔医体液论对疾病的分型相当于中医(汉医)中的证,都是对疾病发生发展不同状态和阶段的高度概括。每一种证在外都会有各自对应的特征。即中医表示的“有诸内,必形诸外”。不同的疾病有着共同的病理生理学基础的证候,此为同证异病。而同是糖尿病患者,却表现出不同的证候(如异常黑胆质型糖尿病、异常胆液质型糖尿病、异常黏液质型糖尿病、异常血液质型糖尿病)此为同病异证。由此可见,维吾尔医体液论是指导维吾尔医诊断、治疗的关键。但维吾尔医体液论还缺乏现代科学的依据。

当机体发生病变时,如患糖尿病,体内代谢就会出现紊乱性变化,在尿液和血液等体液中就会有表现。代谢组学可以分析生物体内源性物质代谢的动态变化,描绘生物体代谢轮廓,探索生物体内源性物质代谢与疾病的关系,从而为维吾尔医体液论提供现代科学的依据。

本文采用基于 NMR 的 PLS-DA 的模式识别方法对黑胆质血糖正常组、异常黑胆质血糖正常组和异常黑胆质型糖尿病组的尿液进行的代谢组分析(图 2),结果显示:(1) 三组间可以区分开,说明三组间存在明显的代谢差异。反映出由正常体液血糖正常向异常黑胆质血糖正常的亚健康状态,最终发展为异常黑胆质型糖尿病的代谢组分变化过程。(2) 异常黑胆质血糖正常组的血糖虽然正常,但是用代谢组学分析尿液

的结果显示,其代谢组分已经开始发生了变化,这表明异常黑胆质血糖正常组在维吾尔医对糖尿病的辨证分型中属于糖尿病前期。

本研究利用 OPLS-DA 模式识别技术鉴别出异常黑胆质型糖尿病组与黑胆质血糖正常组间具有显著差异的代谢物(表 1),相对于黑胆质正常者而言,异常黑胆质型糖尿病患者尿液中的葡萄糖增加,说明机体葡萄糖代谢紊乱,而尿液中出现葡萄糖依然是糖尿病诊断的重要标志物。机体内牛磺酸和甜菜碱主要来源于食物,在体内广泛分布。异常黑胆质型糖尿病患者尿液中的牛磺酸和甜菜碱的增加可能与受检者的饮食有关,或与机体蛋白代谢紊乱有关。与黑胆质血糖正常组相比,异常黑胆质型糖尿病患者尿液中的许多氨基酸含量明显减少,表明机体以糖代谢为主的能量代谢紊乱后,机体可能把更多的氨基酸用于糖异生。异常黑胆质型糖尿病患者尿液中的柠檬酸、乳酸、胆碱、肌酸酐和糖蛋白含量明显减少,表明机体的能量代谢障碍,并出现肾功能损害。马尿酸是苯甲酸和甘氨酸在氨基转移酶的作用下生成。机体内肠道菌群直接分解苯甲酸,进而生成马尿酸,所以体内马尿酸含量的减少也能同时反映出肠道微生物环境可能遭到破坏。

4 结论

本研究基于 NMR 的 PLS-DA 的模式识别方法能将黑胆质血糖正常组、异常黑胆质血糖正常组和异常黑胆质型糖尿病组进行有效的区分,说明维吾尔医体液论对糖尿病辨证分型是有科学依据的;通过 OPLS-DA 模式识别方法寻找到黑胆质血糖正常组和异常黑胆质型糖尿病组两组间体内差异性代谢物,这些差异性代谢物可能正是维吾尔医异常黑胆质型糖尿病的内在物质基础。

参考文献 (References)

- [1] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. Metabonomics: Understanding the metabolic response of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data[J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [2] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(Suppl): S62-S69.
- [3] 买买提明·沙比尔. 维吾尔医学诊断学 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技出版社, 1993.
- [4] Sabir Mamatimin. Diagnostics of Uyghur medicine [M]. Urumqi: Science and Technology Publishing House of Xinjiang, 1993.
- [5] 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔医学气质体液论及其现代研究 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2003.
- [6] Upur Halmurat. Therapy of Mizaj and Hilit in Uyghur medicine and modern study [M]. Urumqi: Science and Technology Publishing House of Xinjiang, 2003.
- [7] 热娜古丽·艾则孜, 沙吉旦·阿不都热衣, 金伟, 等. 复杂性疾病维吾尔医分型及其血栓前状态研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(2): 23-25.
- [8] Renaguli Aizezi, Shajidan Abudureyi, Jin Wei, et al. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2009, 16(2): 23-25.

(责任编辑 吴晓丽)