

# 基于代谢组学分析 COPD 肾虚痰瘀证与异常黑胆质证共性特征

徐卫方<sup>1</sup>, 哈木拉提·吾甫尔<sup>2</sup>, 李凤森<sup>1</sup>, 巴吐尔·买买提明<sup>3</sup>, 杨剑<sup>1</sup>, 热娜古丽·艾则孜<sup>2</sup>, 吴晓华<sup>1</sup>, 尕丽娟<sup>1</sup>

1. 新疆医科大学附属中医院, 乌鲁木齐 830000
2. 新疆医科大学维吾尔医学院, 乌鲁木齐 830011
3. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011

**摘要** 从代谢组学角度进行慢性阻塞性肺部疾病(COPD)中维西医病证结合的临床研究, 解析中维医不同分型间及其与正常人群间代谢表型的构成差异, 寻找并鉴定中维医证型的代谢生物标记物, 阐述中医肾虚痰瘀证及维医异常黑胆质证在代谢组学方面的共性特征改变及其物质基础, 以体现两者在代谢组学方面的交互性, 为 COPD 的诊断、防治提供新的思路和方法奠定一定的基础。首先, 按照纳入标准收集 COPD 稳定期患者 105 例, 进行西医的诊断分级以及中医、维吾尔医的辨证分型, 分为中医肾虚痰瘀证组和维医异常黑胆质证组, 对所有患者及正常对照组受试者血样分批进行核磁共振技术(NMR)的代谢组学方面的测定和分析; 得到健康人与各组 COPD 患者的血浆一维及二维氢谱, 对 <sup>1</sup>H-NMR 谱进行分段积分后的积分值进行 OPLS-DA 分析, 得到 3D 平面分布图, 显示 COPD 患者肾虚痰瘀证组、异常黑胆质证组分别与正常对照组的分布区域完全分开, 而中维医二组的分布区域未完全分开, 说明两组血浆在代谢成分上无明显差异, 同样表现为血浆中多种氨基酸显著降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其中包括异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、酪氨酸、苯丙氨酸。此外, 糖蛋白、不饱和脂类及极低密度脂蛋白也较健康人显著降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而乳酸、肉碱及丙酮、乙酰乙酸较健康人增高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 因此 COPD 二组中维医证患者血浆中代谢紊乱较正常对照组严重, 提示氨基酸、蛋白质的代谢异常及脂肪代谢减弱、三大营养物质代谢反复相互影响的程度更重, 使代谢紊乱状态更加严重。总之, 从代谢组学角度出发, 进行 COPD 中维医病证结合的对比研究, 发现肾虚痰瘀证及异常黑胆质证患者代谢组学改变更突出, 但两证的代谢组学变化基本一致, 其生物表型相似, 表现为氨基酸、脂肪及糖代谢异常, 提示 COPD 肾虚痰瘀证与异常黑胆质证患者机体内三大物质代谢紊乱、能量代谢异常, 相比健康人显示机体的免疫功能更低下、内分泌功能更紊乱、预后更差。

**关键词** COPD; 肾虚痰瘀证; 异常黑胆质证; 代谢组学; 核磁共振

中图分类号 R29

文献标志码 A

doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2013.24.009

## Common Characteristics of COPD of Traditional Chinese Medicine Kidney Depletion-phlegm-stasis Syndrome and Uyghur Medicine Abnormal Savda Syndrome Based on Metabonomics

XU Weifang<sup>1</sup>, UPUR Halmurat<sup>2</sup>, LI Fengsen<sup>1</sup>, MAMTIMIN Batur<sup>3</sup>, YANG Jian<sup>1</sup>, AIZEZI Renaguli<sup>2</sup>, WU Xiaohua<sup>1</sup>, GA Lijuan<sup>1</sup>

1. The Affiliated Chinese Medicine Hospital, Xinjiang Medicine University, Urumqi 830000, China
2. Faculty of Traditional Uighur Medicine, Xinjiang Medicine University, Urumqi 830011, China
3. Pharmacy College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

**Abstract** This paper studies the metabonomics change of COPD of the TCM types and the TUM types, through identifying the metabolic biological markers of the TCM kidney empty-phlegm-stasis syndrome and the Uyghur medical abnormal savda syndrome, to guide the clinical diagnosis of COPD, and to provide some new ideas and methods. (1) A total of 105 cases of patients with COPD, diagnosed according to western medicine diagnosis classification, were chosen and divided two groups according to the TCM and the Uyghur

收稿日期: 2013-04-15; 修回日期: 2013-07-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(81060281)

作者简介: 徐卫方, 副教授, 研究方向为复杂性疾病的中维西医病证结合临床研究, 电子邮箱: xuweifang66@sina.cn; 哈木拉提·吾甫尔(通信作者), 教授, 研究方向为复杂性疾病的中维西医临床及基础研究, 电子邮箱: halmurat@263.net

medicine on syndrome differentiation and classification. Meanwhile, a total of 52 healthy volunteers were chosen as the normal control group, from the medical center of the affiliated hospital of Chinese medicine, Xinjiang Medical University. (2) All blood samples of the subjects were tested through utilizing the NMR metabolomics; (3) The plasma  $^1\text{H}$  NMR spectra were analyzed using the orthogonal projection to the latent structure and the discriminant analysis (OPLS-DA) method with unit variance scaling. The discriminative significance of the metabolites was determined using the Pearson's product-moment correlation coefficient.  $^1\text{H}$  NMR spectrum and 2D pattern recognition in the analysis show that for the COPD patients of the Kidney empty-phlegm-stasis syndrome group, and the abnormal savda syndrome in the normal control group, respectively, their distribution areas are separated completely, the metabolic components of plasma of the two group have a significant difference; but the metabolic components of the kidney empty-phlegm-stasis syndrome group and the abnormal black savda patients are not statistically different ( $P>0.05$ ). The metabolism including the isoleucine, the leucine, the valine, the alanine, the tyrosine, the glutamine, the phenyl-alanine, is significantly reduced in level, and the lactic acid, the glycoprotein VLDL and the unsaturated fat are also significantly reduced. The carnitine is relatively higher, with a difference not statistically significant ( $P>0.05$ ). Extremely low density lipoprotein plasma VLDL, the unsaturated lipid and acetone of the COPD kidney-empty-phlegm-stasis syndrome patients and the abnormal black savda patients are lower, but with a difference not statistically significant ( $P>0.05$ ). So there are 14 kinds of the metabolites, which would expect to be serum specific biomarkers of the COPD kidney-empty-phlegm-stasis syndrome patients and abnormal savda patients. The results indicate that (1) the metabolomics change and the metabolic phenotype of the COPD with the kidney empty-phlegm-stasis syndrome and the abnormal savda syndrome are outstanding but similar, and also with common biomarkers, the material metabolic disorder, the low body's immune function, the endocrine disorders and the energy metabolism disorder are evident; (2) the metabolomics common features of the COPD with the TCM and the Uygur syndrome further reflect the interoperability of the two kinds of medical models of Chinese medicine, Uygur medicine and modern medicine about COPD; the COPD of syndrome differentiation would be more objective and more standard.

**Keywords** COPD; kidney-empty-phlegm-stasis syndrome; abnormal savda; metabolomics; Nuclear Magnetic Resonance

慢性阻塞性肺部疾病 (Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD) 主要累及肺脏,但也可引起全身的炎症反应和其他多种不良效应,严重影响患者的劳动能力和生活质量,是危害公众身心健康的主要病种之一<sup>[1]</sup>;基于 COPD 患病率日益增加,常规西药治疗的药物比较昂贵,且副作用较大,因此为探索规范、经济的防治 COPD 策略,进行传统医学病证结合的规范化研究势在必行。

作为中国传统医学的中医学和维吾尔医学在 COPD 等复杂性疾病的认识和治疗方面拥有独特的理论、组方和疗效。中医认为,脏腑功能失调,如肾虚是疾病的内在因素,即本质因素,而脏腑虚损的病理变化的产物——瘀血、痰浊,是致病的重要因素<sup>[2]</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>[3]</sup>;异常黑胆质同瘀血痰浊一样是病理产物,同样是继发新病变的致病因素<sup>[4]</sup>。代谢组学在方法学上具有融整体、动态、综合、分析于一体的特点,比较符合传统医学诊断治疗疾病和中药作用的整体性原则<sup>[5]</sup>。为此,本研究选择代谢组学分析的核心技术之一的核磁共振技术(NMR),进行 COPD 肾虚痰瘀证与异常黑胆质患者血浆的代谢组学研究,以期发现它们之间的“隐形”内在表现和规律性,为进行 COPD 传统医学病证结合的规范化研究奠定基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

按入院时间及纳入、排除标准收集 COPD 稳定期 I-III 级

的病例共 105 例,均符合 COPD 诊断及分级标准<sup>[6]</sup>,并按中医辨证分型和维吾尔医异常体液分型。其中,肾虚痰瘀证患者 52 例(男性 36 例,女性 16 例;维吾尔族 5 例,回族 2 例)、异常黑胆质证患者 53 例(男性 35 例,女性 18 例;维吾尔族 8 例,哈萨克族 3 例,回族 1 例);健康对照组来自新疆医科大学附属中医院体检中心,选择同期就诊环境匹配、无血缘关系、性别、民族及年龄构成均无差别的健康志愿者 51 例(男性 30 例,女性 21 例),年龄 40~76 岁(58.0±12.0)。并经新疆医科大学附属中医院伦理委员会批准以及患者和健康志愿者知情同意。

### 1.2 COPD 中医辨证分型标准及肾虚痰瘀证诊断标准

根据《中华人民共和国国家标准·中医临床诊疗术语证候部分》,并参照新世纪全国高等中医药院校规划教材《中医内科学》(第 5 版)中肺胀及喘证的中医辨证拟定肾虚痰瘀证分型标准<sup>[7]</sup>,具体如下。

主要症状:(1)精神倦怠,面色恍白或黧黑;(2)胸闷脘痞、胀痛或刺痛;(3)腰膝酸软,畏寒怕冷;(4)舌淡紫或紫暗有瘀斑、苔薄白或滑腻;(5)脉沉弱或弦涩。

次要症状:(1)头身困重,痰涕多;(2)小便清长,夜尿多;(3)肢体麻木,肌肤甲错或肿硬;(4)早衰,耳鸣,发脱,健忘。

以上具备主症 3 项、次症 2 项或主症 2 项、次症 3 项为标准。

### 1.3 维吾尔医异常体液分型标准及异常黑胆质证诊断标准

由主治医师以上的医生参照新疆维吾尔医专科学校教

材《维吾尔医诊断学》中维吾尔医学体液分型的分型标准<sup>[4]</sup>执行(表 1)。

表 1 异常体液的分型标准  
Table 1 Type criteria of abnormal hilit

分型/主症	异常胆液质	异常血液质	异常黏液质	异常黑胆质
脉象	脉细、搏动无规律	脉粗、搏动有力	脉粗、缓弱	脉细缓
眼部变化	眼珠发黄	稍红、血管充血	发白、无神	发青深陷
面部变化	黄、无光、苍白	发红	白皙、无华	稍黑、无光、暗淡
口味	晨起时口苦	晨起时口甘	晨起时口黏	晨起时口为苦涩
舌与舌苔	黄厚舌苔、舌麻易裂	苔黄、舌大	舌苔白腻、舌较大	灰色舌苔、舌干
体表皮肤	粗糙无光	手初始感觉热	手触时较凉	黑粗糙、无光
体温	升高	相对较高	降低	相对降低
尿量	减少	相对较多	量少、小便次数多	量多、次数减少
尿色	黄色或橙色	赤黄	白	发白、静置沉淀
睡眠	少	尚少	多	失眠、多梦

### 1.4 核磁共振实验

#### 1.4.1 样品的采集与处理

受试者于清晨空腹时肘静脉采血 3mL,3000r/min 离心 10min,分离血浆,置-80℃冰箱保存。NMR 实验时,解冻血浆样品至常温,取 200μL 血浆与 400μL 磷酸盐缓冲液(溶质:0.2mol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,0.2mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>;溶剂:80% H<sub>2</sub>O,20% D<sub>2</sub>O,pH 值为 7.4)混合,以消除 pH 值对化学位移的影响,配制完成后 4℃,10000r/min,离心 10min,取上清液 550μL,滴入 5mm 核磁样品管以备测试。

#### 1.4.2 核磁共振氢谱的测试

测试时取出核磁样品管进行测试。<sup>1</sup>H-NMR 谱图的测定均在 Inova 600 型核磁共振波谱仪上用 ID 探头采用弛豫编辑(Carr-Purcell-Meiboom-Gill,CPMG)脉冲序列(RD-90°(τ-180°-τ)<sub>n</sub>-ACQ)进行。<sup>1</sup>H 核磁共振频率为 599.95MHz,扫描累积 128 次,采样数据点为 32768,谱宽 20×10<sup>6</sup>,采样延迟 2s,采样时间均为 1.64s,测试温度 25℃,采用预饱和方法压制水峰。为了有利于解谱工作的顺利进行,选取质量较高的<sup>1</sup>H-NMR 谱样品进行二维核磁共振图谱的测试,包括<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H 同核相关谱(<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H Homonuclear Correlation Spectroscopy,<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY),质子全相关谱(Total Correlation Spectroscopy,TOCSY)和 J-分解谱(J-Resolved Spectroscopic,J-RES)等用于谱图中的各种峰的指认。

#### 1.4.3 数据处理及数据分析

对所有的图谱采用线宽为 0.3Hz 的指数窗函数进行傅里叶变换后进行基线及相位调整,氢谱以 α-D 葡萄糖 5.23×10<sup>-6</sup> 的质子信号为标准定标。在 9.0×10<sup>-6</sup>~0.5×10<sup>-6</sup> 内把谱图以每段为 0.003×10<sup>-6</sup> 积分段进行自动积分,积分值进行归一化处理(每一段的积分值除以所有积分值之和)。数据引入到 Excel 内,因<sup>1</sup>H-NMR 谱 5.22×10<sup>-6</sup>~4.66×10<sup>-6</sup> 范围的信号是水的信号范围,所以删去这一部分数据。用 SIMCA-P+11(Umetrics Inc,Umea,Sweden) 软件进行主成分分析(Principal Component Analysis,PCA),偏最小二乘法判别分析(Partial Least Squares Discriminant Analysis,PLS-DA)以判别两组血浆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判别分析(Orthogonal Partial Least-Squares Discriminant Analysis,OPLS-DA)所得到的代谢物相关系数来确定,而 OPLS-DA 是一种新发展起来的数据分析方法<sup>[9,10]</sup>。有研究表明,在维吾尔医异常体液质疾病模型中 OPLS-DA 分析能很好地区分不同异常体液质患者,并能比较清楚地判定差异性代谢物<sup>[11]</sup>。

本研究中 NMR 数据按照文献描述的方法<sup>[12-13]</sup>进行 OPLS-DA 分析,分析前将数据进行自动规格化处理(Unit Variance Scaling,UV);R<sup>2</sup>X、R<sup>2</sup>Y 和 Q<sup>2</sup> 是所建立模型的质量评价指标。分析模型的优化程度用 R<sup>2</sup>X 描述,表示反应变量 X 的总变异;R<sup>2</sup>Y 描述的是反应变量 Y 的变异百分比;交叉核实参数 Q<sup>2</sup> 描述模型的累积预测程度,表示预测结果的真实性。Q<sup>2</sup>>0.4 时模型的预测结果可以接受<sup>[14]</sup>,而 Q<sup>2</sup>>0.9 时模型的预测结果最可靠<sup>[15]</sup>。

#### 1.4.4 标记物的发现与鉴定

本研究通过代谢物相关系数(correlation coefficient)确定 0.325 作为代谢物含量变化是否具有显著性的阈值(n=49、48),相关系数|r|>0.325 表示代谢物在统计学上有显著性差异(P<0.05),|r|值越大表示差异性越大,反之越小。从相关系数中得到两组的差异性代谢组分的化学位移,并与之相结合确定差异程度,根据以上信息确定 COPD 肾虚痰瘀证与异常黑胆质证患者及其健康人之间的血浆差异性代谢成分。差异性代谢物中相关系数为正值或负值的代谢物是在患者血浆中降低或增加的代谢物。

## 2 结果

### 2.1 COPD 病例中维西医诊断分布

#### 2.1.1 COPD 患者一般资料分布

105 例患者中,重度 COPD(III 级)43 例、中度 COPD(II 级)52 例、轻度 COPD(I 级)10 例;其中,43 例重度 COPD(III 级)包括男性 27 例,女性 16 例,年龄在 48~80 岁(68.566±12.451);52 例中度 COPD(II 级)包括男性 35 例,女性 17 例,年龄在 46~72 岁(58.727±13.253);轻度 COPD(I 级)10 例,包括男性 6 例,女性 4 例,年龄在 45~68 岁(49.820±14.278),见表 2。

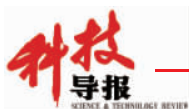


表 2 COPD 病例一般资料

Table 2 General information of the cases material of COPD

病情程度	例数	性别		平均年龄
		男	女	
重度	43	27	16	68.566±12.451
中度	52	35	17	58.727±13.253
轻度	10	6	4	49.820±14.278
合计	105	68	37	

2.1.2 COPD 患者中医证型分布

52 例肾虚痰瘀型 COPD 患者中, 重度 41 例、中度 11 例; 维医 53 例异常黑胆质型 COPD 患者中, 重度 36 例、中度 10 例、轻度 7 例(表 3)。

表 3 COPD 患者病情分级及其中医证型分布

Table 3 COPD patient classification and its syndrome type distribution

病情程度分级	中医证型	
	肾虚痰瘀型例数 (所占比例)	异常黑胆质型例数 (所占比例)
重度 III 级	41(78.85%)	36(67.92%)
中度 II 级	11(21.15%)	10(18.87%)
轻度 I 级	0(0)	7(13.21%)
合计	52(100%)	53(100%)

在肾虚痰瘀型 COPD 病例中, 重度占 71% 左右, 在异常黑胆质型 COPD 病例中, 重度占 70% 左右, 在中医辨证和维医辨证分型中比例也是最高的。

2.2 COPD 患者中医证型与健康人的血浆 NMR 代谢组学比较

2.2.1 各组 COPD 患者与健康人的血浆一维氢谱

检索代谢组学相关 <sup>1</sup>H-NMR 化学位移谱库 (<http://www.hmdb.ca>), 并同时参考文献[16,17]对 COPD 中医证型患者与健康人血浆的部分化合物进行指认, 结果见图 1。其中

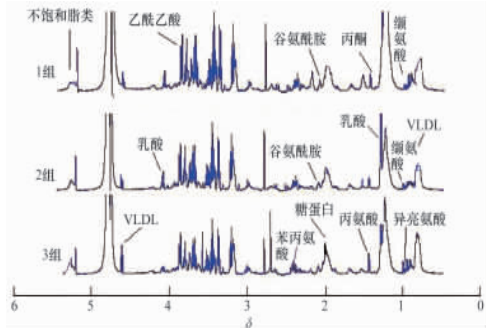


图 1 COPD 患者与健康人典型的血浆核磁共振 <sup>1</sup>H-NMR 谱 (CPMG 脉冲序列)

Fig. 1 Typical <sup>1</sup>H-NMR 500MHz spectra of plasma from COPD patients

注: 1 组, 肾虚痰瘀证患者; 2 组, 异常黑胆质证患者; 3 组, 健康人;  $\delta$ :  $6.5 \times 10^{-6} \sim 8.5 \times 10^{-6}$  范围比原图 ( $\delta$ :  $0.5 \times 10^{-6} \sim 9.0 \times 10^{-6}$ ) 范围放大了 8 倍。

Notes: Group 1, COPD patients with kidney empty-phlegm-stasis syndrome; Group 2, with abnormal savda syndrome; Group 3, healthy controls.

(1) 为肾虚痰瘀证患者血浆 <sup>1</sup>H-NMR 谱, (2) 为异常黑胆质证患者血浆 <sup>1</sup>H-NMR 谱, (3) 为健康人血浆 <sup>1</sup>H-NMR 谱; 显示差异性的代谢物主要为异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、酪氨酸、糖蛋白、极低密度脂蛋白、不饱和脂类、乳酸、肉碱及丙酮、乙酰乙酸。

2.2.2 OPLS-DA 结果

对 <sup>1</sup>H-NMR 谱分段积分后的积分值进行 OPLS-DA 分析, 得到 OPLS-DA 的平面分布图(图 2~图 4), 其中每一个点表示一个样本。通过 OPLS-DA 分析各代谢物的相关系数可确定健康人和 COPD 肾虚痰瘀证及异常黑胆质证患者血浆差异性代谢成分, 结果如表 4。本次分析中,  $R^2X=0.30, R^2Y=0.81, Q^2=0.68$ 。

从图 2~图 3 显示, COPD 肾虚痰瘀证组和异常黑胆质证组与正常对照组的分布区域均完全分开, 2 组血浆在代谢成分上有明显差异; 但图 4 中 COPD 肾虚痰瘀证组与异常黑胆质组的分布区域未完全分开, 结合表 4, 只有 2~3 种代谢成分或相关含量有所不同, 但无特异性改变。从相关系数中得到各组的差异性代谢组分的化学位移并与相关系数相结合确定差异程度, 根据以上信息及用 <sup>1</sup>H-1H 同核相关谱(COSY 谱)、质子全相关谱(TOCSY 谱)、J-分解谱(J-Resolved 谱)等核磁共振二位谱技术进行了信号归属, 确定了健康人与肾虚痰瘀证组和异常黑胆质型 COPD 患者血浆差异性代谢成分, 详见表 4。

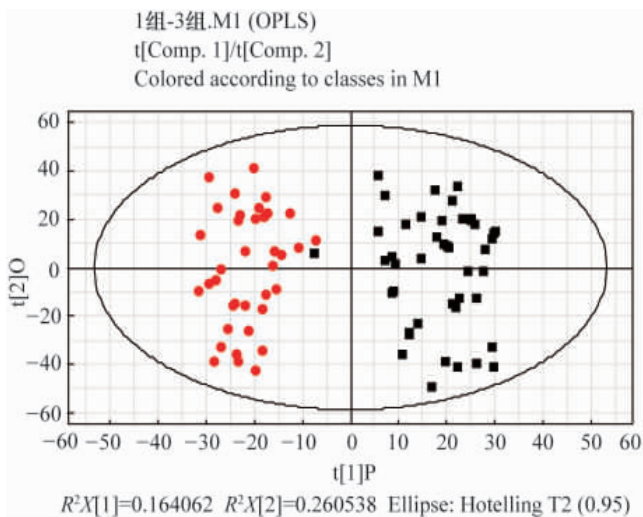


图 2 健康人(■)与 COPD 肾虚痰瘀组患者(●)血浆 <sup>1</sup>H-NMR 谱 (CPMG 脉冲序列) 的 OPLS-DA 分析结果的平面分布

Fig. 2 OPLS-DA scatter plots of <sup>1</sup>H-NMR spectra for healthy volunteers (■) and patients (●)

注: OPLS-DA 分析的模型预测参数分别为  $R^2X=0.30, R^2Y=0.81, Q^2=0.68$ 。

Note: Value of model parameters are  $R^2X=0.30, R^2Y=0.81, Q^2=0.68$  respectively.

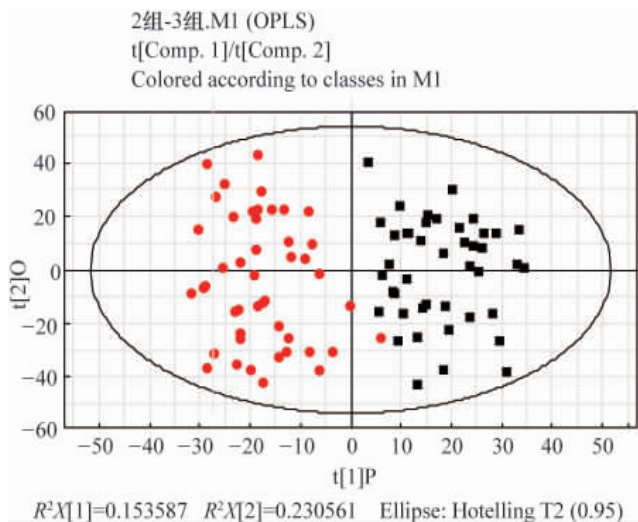


图3 健康人(■)与 COPD 异常黑胆质型组患者(●)血浆 <sup>1</sup>H-NMR 谱(CPMG 脉冲序列)的 OPLS-DA 分析结果平面分布

Fig. 3 OPLS-DA scatter plots of <sup>1</sup>H-NMR spectra for healthy volunteers (■) and COPD patients (●)

注: OPLS-DA 分析的模型预测参数分别为  $R^2X[1]=0.153587$ ,  $R^2X[2]=0.230561$ ,  $R^2Y=0.83$ ,  $Q^2=0.67$ 。

Notes: Value of model parameters are  $R^2X[1]=0.153587$ ,  $R^2X[2]=0.230561$ ,  $R^2Y=0.83$ ,  $Q^2=0.67$  respectively.

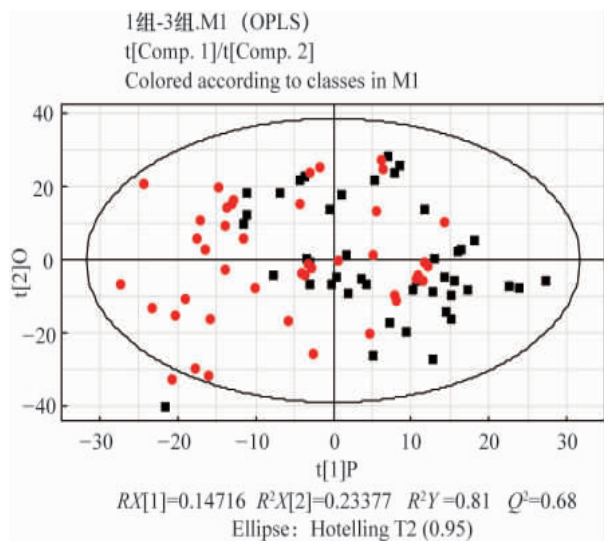


图4 COPD 肾虚痰瘀证患者(●)与异常黑胆质证患(■)者血浆 <sup>1</sup>H-NMR 谱(CPMG 脉冲序列)的 OPLS-DA 的平面分布

Fig. 4 OPLS-DA scatter plots of <sup>1</sup>H-NMR spectra for COPD patients with kidney-empty-phlegm-stasis (●) and with abnormal savda syndrome (■)

注: OPLS-DA 分析的模型预测参数分别为  $R^2X[1]=0.147164$ ,  $R^2X[2]=0.23377$ ,  $R^2Y=0.81$ ,  $Q^2=0.68$ 。

Notes: Value of model parameters are  $R^2X[1]=0.147164$ ,  $R^2X[2]=0.23377$ ,  $R^2Y=0.81$ ,  $Q^2=0.68$ 。

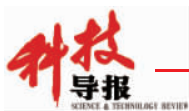
表4 中维医分型 COPD 患者与健康人血浆主要差异性代谢物及其相关系数

Table 4 Changes of metabolites observed in plasma obtained from COPD patients compared with healthy controls and its correlation coefficients

代谢物	化学位移	归属	加相关系	
			健康/肾虚痰瘀型	健康/异常黑胆质型
脂类	lipid (VLDL)	0.85 (m)	0.81	0.82
		0.88 (m)		
异亮氨酸		0.93 (t)	0.80	0.82
	isoleucine	1.00 (d)		
		1.96 (m)		
亮氨酸		0.95 (d)	0.73	0.76
	leucine	0.97 (d)		
		1.72 (m)		
		3.65 (dd)		
缬氨酸		0.98 (d)	0.77	0.71
	valine	1.03 (d)		
		2.26 (d)		
		3.60 (d)		
乳酸	lactate	1.33 (d)	0.68	0.78
		4.11 (q)		
丙氨酸	alanine	1.47 (d)	0.71	0.79
		3.76 (q)		
糖蛋白	glycoprotein	2.03 (s)	0.74	0.49
谷氨酸		2.13 (m)	0.79	0.69
	glutamate	2.36 (m)		
		3.75 (t)		
肉碱		2.22 (s)	-0.65	-0.57
酪氨酸	tyrosine	2.52 (d)	0.78	0.66
		2.67 (d)		
苯丙氨酸	phenylalanine	3.03 (s)	0.75	0.76
		3.93 (s)		
谷氨酰胺		half $\beta$ -CH,	0.75	0.76
	half $\beta$ -C,	2.10 (m)		
	half $\gamma$ -CH <sub>2</sub> , $\alpha$ -CH	2.14 (m)		
不饱和脂类	unsaturated lipid	5.28 (m)	0.78	0.76
		5.30 (m)		
丙酮	acetone	2.22 (s)	-0.36	-0.38
乙酰乙酸	ethyl acetoacetate	2.27 (s)	-0.45	-0.42

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 为两个双重峰。

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



### 3 讨论

本研究显示,首先 COPD 中维医两种证型患者和健康人代谢成分有显著差异,与健康人比较血浆中多种氨基酸含量显著降低( $P<0.05$ ),包括血浆必需氨基酸中的异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸含量明显减少,丙氨酸、谷氨酰胺、酪氨酸含量也减少,而异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸三种又叫支链氨基酸;糖蛋白、极低密度脂蛋白、不饱和脂类也较健康人显著降低,而乳酸、肉碱及丙酮、乙酰乙酸较健康人增高。

本研究结果还显示,中医肾虚痰瘀证和维吾尔医异常黑胆质证两组的分布区域呈现重叠,而组间只是 2~3 种代谢成分上或相关含量有所不同,在代谢组学上未显示明显差异,均表现为血浆中多种氨基酸显著降低,主要包括异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、酪氨酸,而谷氨酰胺、苯丙氨酸未出现在质谱中。此外,两组患者血浆中极低密度脂蛋白(VLDL)、不饱和脂类又较正常健康组下降严重,而乳酸、肉碱及丙酮、乙酰乙酸较健康人增高;这 13 种有差异性的代谢物可一同作为 COPD 肾虚痰瘀证和异常黑胆质证患者的血浆特异性生物标记物;不管是从分析模型的各种参数,还是从各代谢物的相关系数看其变化基本相似;患者均发生了能量代谢异常,表明中医肾虚痰瘀证与维吾尔医异常黑胆质证 COPD 患者体内代谢变化有很大的共同性,血浆代谢组学特点基本一致,主要有氨基酸代谢、糖代谢、脂肪代谢方面的变化;提示免疫功能降低、上皮细胞受到伤害、ATP 储存下降等变化,3 大营养物质代谢反复相互影响,使代谢紊乱状态更加严重。

肾虚痰瘀证及异常黑胆质证是 COPD 中维医辨证各型中病情最重的证型,存在着持续性气道炎症及持续性不可逆的气流阻塞,以及全身炎症反应,由此导致长期持续耗能及营养不良状态,属于以机体组织细胞能级降低为特征的呼吸性疾病,这可能是血浆中亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸及其他几种必需和非必需氨基酸含量明显减少的重要原因之一;另外,支链氨基酸(BCAA)可能通过参与机体的能量代谢而抑制运动中肝、肌糖原的消耗,促进丙氨酸—葡萄糖循环和乳酸—葡萄糖循环,加速糖异生,有利于长期持续耗能状态下能量的供应<sup>[19]</sup>;这也是 COPD 中维医证型患者血浆中乳酸增高而丙氨酸含量下降更明显的可能机制。同时无氧化产物乳酸含量增高明显,说明病程较长或病变较重时更易发生葡萄糖的有氧、无氧化过程障碍。

另外,与健康人相比,肾虚痰瘀型与异常黑胆质型 COPD 患者血浆中乙酰乙酸和丙酮含量显著增加( $P<0.01$ ),二者均为酮体,是脂肪酸在肝细胞线粒体中进行分解代谢所生成的特殊中间产物,在肝细胞生成后进入血液循环,正常人血液中酮体含量极少,而 COPD 患者因肺通气功能障碍,易发生  $\text{CO}_2$  潴留,呼吸性酸中毒,同时随着机体能量代谢需求增加,脂肪的利用,酮体生成也会增加,导致血中酮体浓度增高<sup>[20]</sup>;而患者血浆中其他一些代谢物如糖蛋白较健康者含量减少;血浆中免疫球蛋白多为糖蛋白,具有血液凝固和抗体活性等

多种生物功能;并直接或间接地参与细胞表面的种种识别现象,以保护上皮细胞的完整性、增加淋巴细胞总数,增强免疫系统功能,COPD 患者正是因为免疫明显下降才导致病情反复加重,体现肾虚痰瘀证或异常黑胆质证患者均可发生肺及气道上皮细胞的完整性受损,机体免疫功能明显降低等病理反应。

总之,COPD 肾虚痰瘀证及异常黑胆质证患者病理机制的改变涉及到多个部位、多个器官或多个系统的范畴,存在着整体机能的失平衡状态,这种整体机能的失平衡状态既是 COPD 发生发展的基础,又是 COPD 发生发展的结果,从而形成疾病与整体机能的失调紊乱之间的恶性循环,“因虚致实,虚实夹杂”,最终“痰阻致瘀,瘀阻生痰,痰瘀互结”,以及“病久必黑(异常黑胆质)”、“病重有黑(异常黑胆质)”是对这种状态的精辟描述,导致患者全身功能状态急剧下降,严重影响患者的生活质量与预期寿命。通过本研究,可以认识到代谢表征的改变在一定程度上反映了 COPD 患者肾虚痰瘀证及异常黑胆质证体内的病理生理变化,因此,当发现病变处于中医的肾虚痰瘀证或维吾尔医的异常黑胆质型证时,可针对性开展代谢组学有效的药物作用干预靶点,适时给予提前干预,最终将为提高 COPD 等复杂治性疾病的传统医学治疗效果提供一个良好的平台。这种认识将有利于充实中医等传统医学理论,在指导 COPD 辨证及疗效判定客观化方面有重要意义。

### 4 结论

COPD 肾虚痰瘀证与异常黑胆质型患者代谢成分均与健康人存在显著差异,同时,COPD 肾虚痰瘀证组与异常黑胆质组代谢组分相比基本一致,代谢组分主要包括异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、酪氨酸,谷氨酰胺、苯丙氨酸。此外,乳酸、糖蛋白 VLDL 及不饱和脂类也均显著降低,而乳酸、肉碱及丙酮、乙酰乙酸较健康人增高。这 13 种有差异性的代谢物可一同作为 COPD 肾虚痰瘀证患者和异常黑胆质证患者的血浆特异性生物标记物。提示代谢组学研究的体内小分子化合物可能正是中维医辨证分型的共有物质基础。

### 参考文献(References)

- [1] 郑盛杰. 慢性阻塞性肺疾病中医辩证规范化研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.  
Zheng Shengjie. Standardizational research on traditional Chinese medicine dialectical in chronic obstructive pulmonary disease [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2008.
- [2] 沙吉旦·阿不都热衣木, 金伟, 热娜古丽·艾则孜, 等. 复杂性疾病血栓前状态指标变化的共性研究[J]. 科技导报, 2007, 25(20): 27-32.  
Shajida Abdurehim, Jing Wei, Rena Aziz, et al. Science & Technology Review, 2007, 25(20): 27-32.
- [3] 哈木拉提·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[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2009.  
Halmuat Upur, Abdurehim Yusup, Nuermaiti Amaiti. New conception on the theory of abnormal savada in traditional uighur

- medicine[M]. Urumqi: Xinjiang People Publishing House, 2009.
- [4] 哈木拉提·吾甫尔. 气质体液论及其现代研究 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2003.
- Halmurat Upur. Theory of mizaj and hilit in uighur medicine and modern study[M]. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 2003.
- [5] Denken C, Budczies J, Kind T, et al. Mass spectrometry-based metabolic profiling reveals different metabolite patterns in invasive ovarian carcinomas and ovasive borderline tumors[J]. Cancer Research, 2006, 66(22): 10795-10804.
- [6] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南 2007 年修订版 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(1): 8-17.
- Chronic Obstructive Pulmonary Disease Group of Respiratory Medicine Branch of Chinese Medical Association. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2007, 30(1): 8-17.
- [7] 周仲英, 金实, 李明富, 等. 中医内科学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003.
- Zhou Zhongying, Jin Shi, Li Mingfu, et al. Internal medicine of traditional Chinese medicine [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2003.
- [8] 哈木拉提·吾甫尔. 气质体液论及其现代研究 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2003: 68-72.
- Halmurat Upur. Theory of mizaj and hilit in uighur medicine and modern study[M]. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Publishing House, 2003: 68-72.
- [9] Brindle J T, Nicholson J K, Schofield P M, et al. Application of chemometrics to <sup>1</sup>H-NMR spectroscopic data to investigate a relationship between human serum metabolic profiles and hypertension [J]. Analyst, 2003, 128(1): 32-36.
- [10] Odunsi K, Wollman R M, Ambrosone C B, et al. Detection of epithelial ovarian cancer using <sup>1</sup>H-NMR-based metabonomics [J]. International of Cancer, 2005, 113(5): 782-788.
- [11] Yin P, Mohemaiti P, Chen J, et al. Serum metabolic profiling of abnormal savda by liquid chromatography/mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2008, 871(2): 322-327.
- [12] Gavaghan C L, Wilson I D, Nicholson J K. Physiological variation in metabolic phenotyping and functional genomic studies: Use of orthogonal signal correction and PLS-DA [J]. FEBS Letters, 2002, 530(1-3): 191-196.
- [13] Trygg J, Wold S. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS)[J]. Journal of Chemometrics, 2002, 16(3): 119-128.
- [14] Cloarec O, Dumas M E, Trygg J, et al. Evaluation of the orthogonal projection on latent structure model limitations caused by chemical shift variability and improved visualization of biomarker changes in <sup>1</sup>H NMR spectroscopic metabonomic studies [J]. Analytical Chemistry, 2005, 77(2): 517-526.
- [15] Eriksson L, Johansson E, Kettaneh-Wold N, et al. Multi- and megavariate data analysis: Basic principles and applications [M]. Umea, Sweden: Umetrics AB, 2001.
- [16] Laundsen M, Hansen S H, Jaroszewski J W, et al. Human urine as testmaterial in <sup>1</sup>H NMR-based metabonomics: Recommendations for sample preparation and storage [J]. Analytical Chemistry, 2007, 79(3): 1181-1186.
- [17] Ott K H, Aranibar N. Nuclear magnetic resonance metabonomics: Methods for drug discovery and development [J]. Methods in Molecular Biology, 2007, 358: 247-271.
- [18] 钱元诚. 呼吸治疗的基础与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.
- Qian Yuancheng. Foundation and clinic about the respiratory therapy [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003.
- [19] Shimomura Y, Murakami T, Nakai N, et al. Suppression of glycogen consumption during acute exercise by dietary branched-chain amino acids in rats [J]. Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo), 2000, 46(2): 71-77.
- [20] 周爱儒, 查锡良. 生物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 558-559.
- Zhou Ain, Cha Xiliang. Biological chemistry [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 558-559.

(责任编辑 吴晓丽)



## 《科技导报》征集“封面文章”

为快速反映我国最新科技研究成果,《科技导报》拟利用刊物最显著位置——封面将最新科研成果第一时间予以突出报道。来稿要求:研究成果具创新性或新颖性;反映该领域我国乃至世界前沿研究水平;可以图片形式予以反映,图片美观、清晰、分辨率超过300dpi;文章篇幅不限,要说明研究的背景、方法、取得的结果,以及结论。在线投稿:www.kjdb.org。