

· 药物代谢 ·

干寒环境对大鼠尿液与血浆代谢成分的影响

阿合尔扎马尼·麦麦提, 米热阿依·亚力昆, 太力艾提·吐尔洪,

迪那拉·恰热甫汗, 巴吐尔·买买提明*

(新疆医科大学 维吾尔医学院, 药学院, 中心实验室, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的:**通过核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$)分析方法探讨干寒环境及饮食对大鼠尿液和血浆代谢物的影响,寻找可能的生物标记物及其相关代谢途径。**方法:**利用干寒环境及饮食作为应激源干预大鼠 3 周,采集其尿液和血浆样本,检测 $^1\text{H-NMR}$,结合多变量数据分析方法筛选与鉴定相关代谢标志物,并分析代谢通路。**结果:**干寒属性环境及饮食导致尿液 23 种代谢物,血浆中 15 种代谢物发生了显著变化;这些代谢物与多种代谢通路的变化密切相关,包括三羧酸循环,丙酮酸代谢,糖酵解或糖异生,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,组氨酸代谢,乙醛酸和二羧酸代谢,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢通路。**结论:**干寒环境及饮食条件可导致体内多种代谢通路的变化,基于 $^1\text{H-NMR}$ 的代谢组学研究方法具有解释机体病理生理动态性,整体性变化的优势,对于探索非确定性疾病因素发病机制有着重要的意义。

[关键词] 干寒环境; 饮食; 代谢组学; 核磁共振氢谱; 三羧酸循环; 氨基酸; 代谢通路

[中图分类号] R22;R24;R28;C37;R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)11-0115-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.201906

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181203.1004.002.html>

[网络出版时间] 2018-12-05 11:14

Effect of Dry-cold Environment on Metabolic Components in Urine and Plasma of Rats

MAIMAITI Aheerzhama-ni, YALIKUN Mirea-yi, TAILAITI Tuer-hong,

QIAREFUHAN Dina-la, MAMTIMIN Batur*

(Central Laboratory, School of Pharmacy, Institute of Traditional Uighur Medicine,

Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** Nuclear magnetic resonance hydrogen spectrum ($^1\text{H-NMR}$) was adopted to investigate the effect of dry-cold environment and diet on urine and plasma metabolites of rats, in order to find possible biomarkers and their related metabolic pathways. **Method:** The dry-cold environment and diet were used as a stressors to intervene rats for 3 weeks, urine and plasma samples were collected. $^1\text{H-NMR}$ combined with multivariate data analysis were used to identify relevant metabolic markers and analyze their metabolic pathways. **Result:** The dry-cold environment and diet resulted in significant changes of 23 metabolites in urine and 15 metabolites in plasma; these metabolites were closely related to changes of various metabolic pathways, namely the tricarboxylic acid (TCA) cycle, pyruvate metabolism, glycolysis or gluconeogenesis, valine, leucine and isoleucine biosynthesis, glycine, serine and threonine metabolism, histidine metabolism; glyoxylic acid and dicarboxylic acid metabolism, alanine, aspartic acid and glutamate metabolism. **Conclusion:** Dry-cold environment and diet conditions can lead to the changes of various metabolic pathways in the body. The metabolomics based on $^1\text{H-NMR}$ has the advantage of explaining the pathophysiological dynamics and overall changes of the body, which is of great significance for exploring the pathogenesis of non-deterministic disease factors.

[收稿日期] 20180921(022)

[第一作者] 阿合尔扎马尼·麦麦提,在读硕士,从事疾病代谢组学研究,E-mail:3126687852@qq.com

[通信作者] *巴吐尔·买买提明,教授,博士生导师,从事疾病代谢组学研究,E-mail:batur72@163.com

[Key words] dry-cold environment; diet; metabolomics; nuclear magnetic resonance hydrogen spectrum ($^1\text{H-NMR}$); tricarboxylic acid cycle; amino acids; metabolic pathways

当自然环境发生变化时,人体内环境也会发生与之相应的变化。中医学历来一直非常重视人与自然环境的关系,中医学中季节气候、昼夜晨昏、地理环境和饮食习惯对人体生理病理的影响论述颇多。不同地区由于气候、土质或水质的不同,其饮食结构、居住条件和生活方式上也会有一定的差异。中医学认为体质的可变性具有 2 个基本规律:①身体在不同发育阶段表现出了特有的体质特点;②身体状况因外在多种因素干扰而产生的相应变化。这 2 种变化往往同时存在并相互影响。因此,在长期固定的片面性饮食习惯和生活环境中,体质的变化可能是由于体内某些成分的含量变化而引起的。无论是四时气候的变化,还是饮食习惯(生活环境)的改变,都是生物生存的重要条件之一,运用恰当则对人体健康有利,能达到预防疾病、保健、增进健康等避害就利的效果,但有时也会成为对生物生存不利的因素,进而影响身体的健康^[1]。

王洋等^[2]研究发现湿热环境会加速疾病的进展以及加重疾病的严重程度,此外,还对肥胖症、糖尿病、高血压及冠心病等与饮食相关的代谢性疾病有一定影响。Lean 等^[3]研究发现低热量饮食限制组在 1 年内有 74% 的患者不再需要服药控制血糖,46% 的患者达到了糖尿病缓解标准,而非饮食限制组的这两项指标则分别只有 18% 和 4%。环境因素跟疾病之间有不确定性的关系^[4],涉及疾病发生的因素有很多,到目前为止看到的只是很小一部分。虽然目前有关环境因素与疾病关联性的研究颇多,但仍缺乏对其直接关联的物质基础。代谢组学可以从整体代谢物的变化模式来反映机体整体生理、病理状态,与中医学的相通性体现于整体性和动态性,已在中医药现代化研究领域得到了广泛应用^[5-6]。本课题组前期进行的糖尿病以及肝癌病证模型研究的预试验结果提示,环境因素(干寒环境)对模型的影响可能更为突出。为了考察环境因素对机体的影响,本实验根据“外寒引动内寒”理论,选择干寒环境和干寒饲料为应激源,在大鼠体内复制拟寒性偏颇趋向的体质,通过基于核磁共振技术的代谢组学方法来考察干寒环境因素对大鼠体内代谢的影响,以阐明其物质基础与生物学机制。

1 材料

RXZ-436A 型人工气候箱(宁波江南仪器厂),

GS-15R 型低温超速离心机(美国 Beckman 公司), DW-86L388A 型立式超低温保存箱(中国海尔集团), Inova-600 型核磁共振波谱仪(美国 Varian 公司), BSA224S-CW 型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。3 kDa 超滤管(美国 Millipore 公司,批号 R7MA63912), WG-1000-7 型 5 mm 核磁管(美国 Wilmad-LabGlass 公司,批号 072717A), 4% 多聚甲醛固定液(上海威奥生物科技有限公司,批号 1115B17), 重水(北京百灵威科技有限公司,批号 LA20P165)。

选取 16 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 4~6 周龄, 体质量(200 ± 20) g, 购自新疆医科大学动物实验中心, 许可证号 SYXK(新)2016-0002, 本文涉及的动物实验通过了新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会审批, 符合实验动物伦理标准, 批准号 IACUC-20140304001。

2 方法与结果

2.1 特制干寒饲料的制备 每 1 kg 饲料中干寒饲料和普通大鼠饲料按照 3:7 的比例混合[其中干寒饲料^[7-8]组成为胡荽籽(性平)-大麦(性寒)(1:2)]制成颗粒状干饲料, 并委托新疆医科大学实验动物中心加工。

2.2 动物分组和喂养 大鼠在 SPF 级实验室饲养 4 d 以适应环境, 随机分为正常组和模型组(每组 8 只)。正常组不进行任何处理, 在室温下[温度(25 ± 3) °C, 相对湿度 60%~80%]用普通饲料饲养, 自由饮食和饮水, 从上午 6:00 至下午 6:00 提供光线, 喂养 21 d。模型组采用寒冷干燥环境[人工气候箱温度调节至(6 ± 1) °C, 相对湿度 25%~32.8%。每日放置人工气候箱 12 h], 用特制干寒饲料喂养, 自由饮水, 2 个因素复合作用 21 d。

2.3 各组大鼠血浆、尿液样本的收集 在干预的最后 1 d, 使用代谢笼收集每只大鼠的 24 h 尿液样本, 并且收集大鼠尿液期间停止喂食, 但可正常提供灭菌饮用水, 收尿管里加 1% 叠氮钠溶液 100 μL 以防腐, 储存在 -80 °C 超低温冰箱中, 待测。大鼠在麻醉状态下从腹主动脉采集血液, 将血液收集在抗凝管中, 于 $3\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离血浆, 用移液枪移到离心管中, 并储存在 -80 °C 超低温冰箱中, 待测。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件的独立样本 *t* 检验进行统计分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,

$P < 0.05$ 表示差异具有显著性差异。

2.5 NMR 检测与数据处理 采用 NOESYPRESAT-1D(RD-90°-t1-90°-tm-90°-ACQ) 脉冲序列进行每个样本的氢谱测定。2,2-二甲基-2-硅杂戊烷-5-磺酸钠(DSS)作为化学位移 0 ppm 的定标。使用预饱和抑制水峰的方法,采样点 32 k,饱和时间 2 s,谱宽 0.1 MHz,扫描数 128 次,采样时间 1.64 s,测试温度调整 25 °C。

2.5.1 尿液 将尿液样本从超低温冰箱中拿出,室温下解冻,离心(4 °C, 12 000 r·min⁻¹, 10 min, 下同),精密吸取上清液 450 μL,混于 50 μL 含 0.109% DSS 的磷酸盐缓冲液中,置于 5 mm 核磁管中,分别标记,置于 4 °C 冰箱中,待测。

2.5.2 血浆 将血浆样本从超低温保存箱中取出,室温下解冻,离心,取上清液,放入 3 kDa 超滤管中,于 12 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,精密吸取过滤液 450 μL,混于 50 μL 含 0.109% DSS 的磷酸盐缓冲液中,置于 5 mm 核磁管中,分别标记,置于 4 °C 冰箱中,待测。

为了核磁共振图谱分析工作的顺利完成,测试了具有良好质量的尿液和血浆部分¹H-NMR 谱样本的核磁共振 2D 谱,包括质子全相关谱(TOCSY)[作用以同一耦合体系中找到所有质子的相关峰],¹H-¹H 同核相关谱(¹H-¹H COSY)[以帮助得到质子之间的耦合信息]和 J-分解谱(J-RES)[有利于一维谱和二维谱的主要补充对图谱严重重叠部分的解读]等,均用于谱图中的各种峰的指认和鉴定。使用线宽为 0.3 Hz 的指数窗函数对所有尿液、血浆样本的¹H-NMR 谱进行傅立叶变换。使用 MestReNova 6.1 软件对所有的图谱进行相位调整和基线校正、定标。将¹H-NMR 图谱在化学位移 δ-0.1~9.0 ppm 以每段为 δ 0.003 ppm 进行分段积分,同时剪除 δ 4.7~4.95 ppm 的水峰。在执行多变量数据分析之前,对每个分段的积分值进行“归一化”处理,所得数据用 SIMCA-P⁺ 11 软件进行正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA),获得的变量重要性投影(VIP)值 > 1 的代谢物被认为是在两组中具有差异性的代谢物。

2.6 体质量变化 见表 1。结果发现在第 14 天与第 21 天时,模型组体质量增长显著低于正常组,且差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.7 尿液和血浆的 NMR 谱图分析 大鼠尿液和血浆样本¹H-NMR 谱的 OPLS-DA 结果显示两组分布区域完全分开,采用交叉验证后计算得到的 R^2X 和

表 1 正常组与模型组大鼠体质量的比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Comparison of body weight changes between normal group and model group($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	第 7 天	第 14 天	第 21 天
正常	282.71 ± 15.59	329.88 ± 34.31	379.44 ± 14.97
模型	277.96 ± 9.87	287.49 ± 12.40 ²⁾	300.62 ± 12.42 ¹⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

R^2Y (代表模型可解释的变量), Q^2 (代表模型的可预测度)对模型有效性进行评价,结果尿液的 $R^2X = 0.314$, $R^2Y = 0.933$, $Q^2 = 0.737$; 血浆的 $R^2X = 0.346$, $R^2Y = 0.844$, $Q^2 = 0.583$ 。参数值越接近于 1,代表模型拟合度越好,反之则拟合度越差。因此,认为两组大鼠尿液和血浆代谢成分上具有一定的差异。在上述分析的基础上,通过排列试验随机多次($n = 200$)改变分类变量 Y 的排列顺序,得到相应不同的随机 Q^2 对模型有效性作进一步的检验,结果没有出现过度拟合现象,说明模型可靠。见图 1。

大鼠尿液和血浆代谢物¹H-NMR 归属见图 2,3。与正常组相比,模型组尿液中乳酸、肌酸、丙氨酸、乙酸、丙酮酸、甲胍、甘氨酸,异亮氨酸和 3-甲基组氨酸的含量水平显著升高,而乙酰胺、糖蛋白、丙酮和 α-酮戊二酸、柠檬酸、肌酸酐、尿囊素、三甲胺、二甲胺、马尿酸、甲酸、苯丙氨酸,牛磺酸和尿刊酸酯的含量水平明显降低;血浆中亮氨酸,异亮氨酸,缬氨酸,甘氨酸,α-葡萄糖,β-葡萄糖,β-羟丁酸和肌酸的含量水平明显升高,而乳酸、丙氨酸、甲酸、丙酮、肉碱、酪氨酸和乙酸的含量显著降低。见表 2。

采用 MetaboAnalyst 4.0 软件进一步分析差异性代谢物的代谢通路。代谢通路影响因子是衡量代谢物在网络中重要性的指标,可用作确定相关代谢通路的指标^[9-10]。与差异性代谢物相关代谢通路中通路影响值(pathway impact) > 0.1 及 $-\log(P) > 3$ 的通路被认为是潜在的靶标代谢通路,见图 4。在大鼠尿液样本中与差异性代谢物相关的代谢通路有三羧酸循环(TCA 循环),丙酮酸代谢,糖酵解或糖异生,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸(BCAAs)生物合成,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,组氨酸代谢,乙醛酸和二羧酸代谢共 7 种;而在大鼠血浆样本中与差异性代谢物相关的代谢通路则有 BCAAs 生物合成,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢共 3 种,其中 BCAAs 生物合成通路的影响值最大。见表 3。

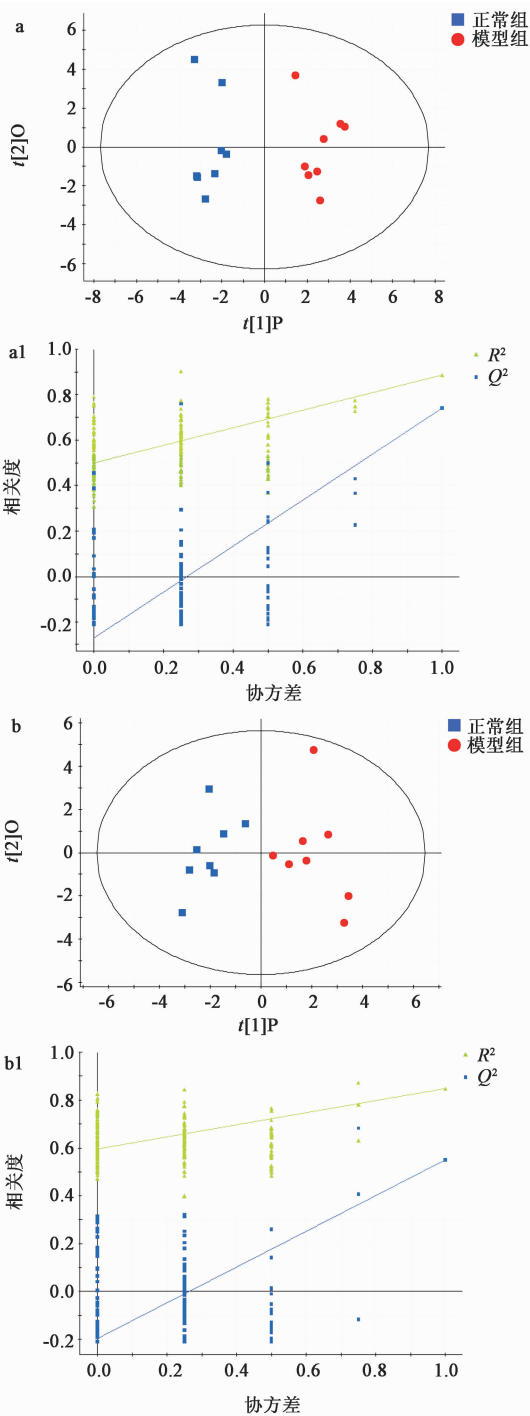
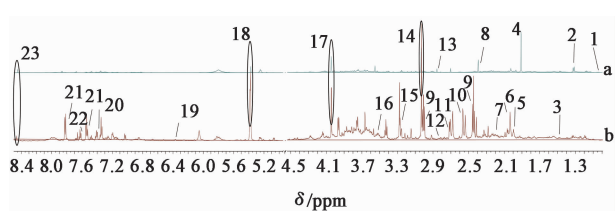


图 1 正常组与模型组大鼠尿液 (a) 和血浆 (b) 的 OPLS-DA 得分以及尿液 (a1) 和血浆 (b1) 的置换验证
Fig.1 OPLS-DA score plots of urine (a) and plasma (b) of rats from normal group and model group, and replacement verification diagrams of urine (a1) and plasma (b1)

3 讨论

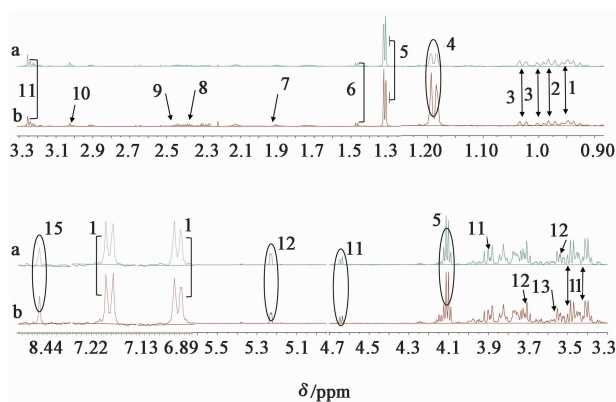
生命体会通过负反馈系统应答生活环境的变化,并产生特异性和(或)非特异性反应,维持身体在新的稳定状态^[11]。应激源的持续作用,使机体自我调整,新稳态重新被塑造。如果新的稳定状态被



a. 模型组; b. 正常组; 1. 异亮氨酸; 2. 乳酸; 3. 丙氨酸; 4. 乙酸; 5. 酰胺; 6. 糖蛋白; 7. 丙酮; 8. 丙酮酸; 9. α -酮戊二酸; 10. 柠檬酸; 11. 二甲胺; 12. 甲胍; 13. 三甲胺; 14. 肌酸; 15. 牛磺酸; 16. 甘氨酸; 17. 肌酸酐; 18. 尿囊素; 19. 尿酸酯; 20. 苯丙氨酸; 21. 马尿酸; 22. 3-甲基组氨酸; 23. 甲酸

图 2 大鼠尿液的¹H-NMR

Fig.2 ¹H-NMR of rat urine



a. 模型组; b. 正常组; 1. 异亮氨酸; 2. 亮氨酸; 3. 缬氨酸; 4. β -羟丁酸; 5. 乳酸; 6. 丙氨酸; 7. 乙酸; 8. 丙酮; 9. 肉碱; 10. 肌酸; 11. β -葡萄糖; 12. α -葡萄糖; 13. 甘氨酸; 14. 酪氨酸; 15. 甲酸

图 3 大鼠血浆的¹H-NMR

Fig.3 ¹H-NMR of rat plasma

破坏,其将进一步发展,直到该系统崩溃并在其他系统内再寻求稳态^[12],但这种新的稳态相对于原有的稳态来说,可能更容易被破坏而使系统崩溃^[13]。这种新稳态没得到回复或者被破坏再寻求稳态就意味着机体整体性平衡被受损,从此生命有机体的内环境稳态受到威胁,轻者为亚健康也是所说的人体第三状态,重者可能发展为疾病。中医理论中体质学说认为,体质倾向引起人体对病因或疾病的易感性存在一定差异。特定体质与对应的疾病之间存在特殊“感应”^[14]。确切的说,非正常体质取决于机体某种因素的易感性或防御性的承受程度,进而引导机体整体性的生理、病理等动态变化。

本研究结果显示,实验干预因素对大鼠尿液和血浆中多种代谢物含量有明显的影响,这些代谢物与多种代谢通路的变化有关。其中缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸是重要的支链氨基酸,在剧烈运动或空腹时代谢形成葡萄糖,因此具有帮助控制血糖水平

表 2 两组大鼠血浆及尿液中差异性代谢物的 VIP 值及其变化趋势
Table 2 VIP values and their change trends of differential metabolites in plasma and urine of rats from two groups

代谢物 ¹⁾	模型组/正常组 ¹⁾		代谢物 ²⁾	模型组/正常组 ²⁾	
	VIP 值	趋势 ³⁾		VIP 值	趋势 ³⁾
肌酸	11.03	↑	二甲胺	4.86	↓
乳酸	3.48	↑	三甲胺	2.86	↓
丙氨酸	2.04	↑	异亮氨酸	1.17	↑
乙酸	9.67	↑	3-甲基组氨酸	2.56	↑
乙酰胺	1.70	↓	亮氨酸	3.23	↑
糖蛋白	1.13	↓	异亮氨酸	2.41	↑
丙酮	1.66	↓	缬氨酸	3.12	↑
丙酮酸	5.27	↑	乳酸	22.40	↓
α-酮戊二酸	4.15	↓	丙氨酸	2.11	↓
柠檬酸	2.51	↓	乙酸	2.56	↓
甲胍	1.37	↑	丙酮	1.38	↓
甘氨酸	5.03	↑	肉碱	1.94	↓
肌酸酐	5.39	↓	甘氨酸	2.86	↑
尿囊素	1.24	↓	酪氨酸	1.33	↓
尿刊酸酯	1.41	↓	甲酸	1.94	↓
马尿酸	5.01	↓	β-羟丁酸	2.13	↑
甲酸	2.38	↓	肌酸	1.48	↑
苯丙氨酸	3.08	↓	α-葡萄糖	4.30	↑
牛磺酸	3.57	↓	β-葡萄糖	5.35	↑

注: ¹⁾ 尿液, ²⁾ 血浆, ³⁾ 与正常组比较。

的作用,蛋白质的生物合成是其另外一个功能,所以也组成了人体相当数量的骨骼肌。此外,还可以影响蛋白质绑定以及疏水化合物的识别;还能提高

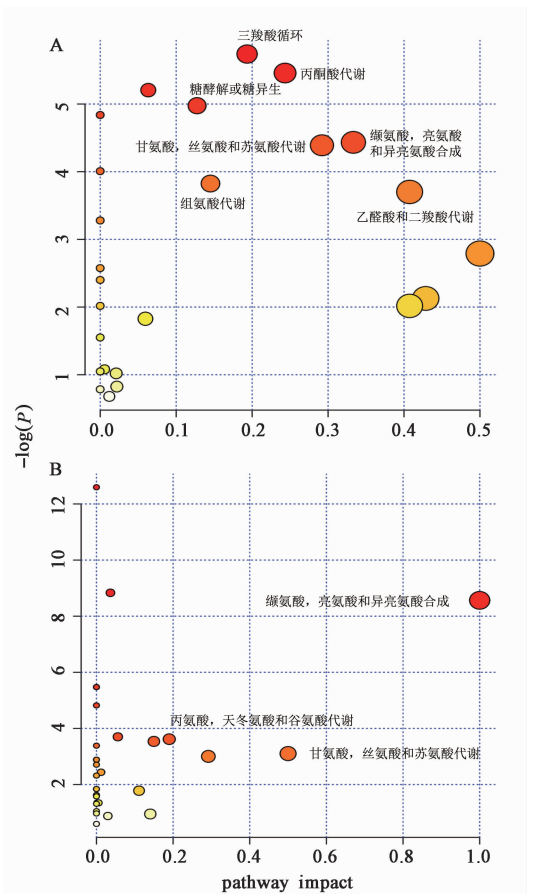
表 3 两组大鼠尿液和血浆中差异性代谢物的相关代谢通路分析

Table 3 Analysis of metabolic pathways associated with differential metabolites in urine and plasma of rats

样品	通路	Hits/个	Raw P	-log(P)	FDR P	impact
尿液	TCA 循环	3	0.003	5.738 6	0.128 3	0.193 4
	丙酮酸代谢	3	0.004	5.458 3	0.128 3	0.243 4
	糖酵解或糖异生	3	0.007	4.975 4	0.128 3	0.127 5
	BCAAs 生物合成	2	0.012	4.433 6	0.143 4	0.333 3
	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	3	0.012	4.390 7	0.143 4	0.292 0
	组氨酸代谢	2	0.022	3.825 0	0.196 4	0.145 2
	乙醛酸和二羧酸代谢	2	0.025	3.700 9	0.200 1	0.407 4
	BCAAs 生物合成	3	0	8.565 2	0.005 1	0.999 9
血浆	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢	2	0.029	3.536 2	0.262 1	0.149 8
	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	2	0.05	3.003 1	0.323 1	0.292 0

注: Hits. 筛选出的差异代谢物在该代谢途径中的个数; Raw P. 富集分析的原始计算 P; -log(P). 代谢通路富集分析的显著性水平; FDR P. 多重检验中的伪发现率 (FDR) 错误控制 P; impact. 路径拓扑分析计算出的影响值。

生长激素的产量,并帮助燃烧内脏脂肪,这些脂肪由于处于身体内部,因此仅通过节食和锻炼难以对其产生有效作用。在本研究中这 3 种氨基酸在模型组血浆中都明显增高,这可能与蛋白质代谢紊乱、肝脏及肌肉中蛋白质合成减少、增加其分解有关。



A. 尿液; B. 血浆

图 4 大鼠尿液和血浆中差异代谢物的代谢通路

Fig. 4 Metabolic pathways of differential metabolites in urine and plasma of rats

通过代谢通路分析得知,模型组中甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路发生了显著变化。甘氨酸是参与蛋白质合成的关键底物,而且在参与肌酸合成中起着重要的作用^[15]。甘氨酸还可与蛋氨酸和精氨酸合成肌基乙酸,然后在肝脏经甲基化后生成肌酸,

最后与高磷酸基团结合生成磷酸肌酸,当机体消耗过多能量时,磷酸肌酸就可以促进三磷酸腺苷(ATP)的合成,所以模型组甘氨酸含量比正常组升高,其含量的变化与生物体内能量代谢及蛋白质、脂肪代谢功能异常有关^[16]。

丙酮酸位于丙酮酸代谢通路中的关键位置,是重要的能量物质和生理抗氧化剂,在糖类、蛋白质和脂肪三大营养物质的代谢中发挥重要作用;而且丙酮酸能快速提供 ATP 和三磷酸鸟苷(GTP),还能够改善多种组织的缺血再灌注损伤^[17]。葡萄糖与乳酸在无氧化过程中产生丙酮酸,促进体脂、体质量的下降^[18]。能量代谢障碍、器官功能损伤可能介导尿液中丙酮酸水平的升高和 α -酮戊二酸水平的降低。糖酵解和糖异生始于葡萄糖开始分解生成丙酮酸的过程,有氧条件下丙酮酸可进一步氧化分解生成乙酰辅酶 A 后进入 TCA 循环。丙氨酸是生糖氨基酸,可转化为乙酰辅酶 A 并参与 TCA 循环为机体提供能量,因此,丙氨酸含量的变化也涉及能量代谢的变化^[19]。本研究中模型组大鼠体质量增长低于正常组,这结果除了与丙酮酸代谢异常有关以外,也与肉碱含量降低存在一定联系,因为肉碱存在于肌细胞的线粒体中,其在脂肪酸氧化成 ATP 的过程起着重要作用。TCA 循环包括调节线粒体中电子传递链的各种合成代谢和分解代谢的生物化学途径,最终通过产生 ATP 提供能量^[20];柠檬酸为 TCA 循环产物, α -酮戊二酸也是 TCA 循环的中间产物,其含量的降低与能量消耗的增加有关。本实验中这 2 种代谢物均下降,说明线粒体的功能受到影响,进而导致 TCA 循环受到抑制^[21]。

本实验所选方法简便、科学,条件便于控制,可能对严寒环境及饮食长期作用对机体所带来的变化及其可能导致机体进入亚健康状态(机体第三状态)的预测有所提示,但干预方法和模型组的表现还需多层次、多系统、多指标观察来阐述并评价整体功能的变化。

[参考文献]

[1] 谢宁. 中医学基础[M]. 9 版. 北京:中国中医药出版社,2012;5,106.
[2] 王洋,蔡志钢,张永煜. 湿热环境对 CCl₄ 诱导大鼠肝炎模型的影响及代谢组学研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2018,20(1):101-108.
[3] Lean M E, Leslie W S, Bames A C, et al. Primary care-led weight management for remission of type 2 diabetes (DiRECT): an open-label, cluster-randomised trial[J]. Lancet, 2017, 391(10120):541-551.
[4] 吴家睿. “健康”饮食需要关注的因素[J]. 科学(上

海),2018,70(4):23-26.

[5] 王静,陈悦,袁子民,等. 基于尿液代谢组学分析肉豆蔻麸炮制前后对大鼠长期毒性的作用差异[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(4):8-13.
[6] 郭慧,崔扬,王秋红,等. 基于代谢组学技术的中药复方研究近况[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(1):213-219.
[7] 《中医堂》编委会. 中华中草药图谱全典[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,2015:14.
[8] 李时珍. 本草纲目彩色图鉴[M]. 易磊,牛林敬,译. 北京:人民军医出版社,2013:98.
[9] XIA J, Sinelnikov I V, HAN B, et al. MetaboAnalyst 3.0—making metabolomics more meaningful[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(W1):W251-W257.
[10] SHAN L, LIAO F, JIN H, et al. Plasma metabonomic profiling of lumbar disc herniation and its traditional Chinese medicine subtypes in patients by using gas chromatography coupled with mass spectrometry[J]. Mol Biosyst, 2014, 10(11):2965-2973.
[11] 张铭. 稳态应激——变化的稳态[J]. 生理科学进展, 2015, 46(4):269-272.
[12] 严进,路长林,刘振全. 现代应激理论概述[M]. 北京:科学出版社,2008,3-26.
[13] Carter J R, Goldstein D S. Sympathoneural and adrenomedullary responses to mental stress[J]. Compr Physiol, 2015, 5(1):119-146.
[14] 郭峰,谢榆,袁滨. 基于中医体质学说的运动疗法在干预高尿酸血症中的临床观察[J]. 贵州医药,2018, 42(1):65-67.
[15] Amelio I, Cutruzzolá F, Antonov A, et al. Serine and glycine metabolism in cancer[J]. Trends Biochem Sci, 2014, 39(4):191-198.
[16] 沈淑洁,水素芳,肖炳坤,等. 基于¹H-NMR 及 LC-MS 技术研究金铃子散对炎症大鼠模型调节机制的影响[J]. 中国中药杂志,2017,42(2):363-369.
[17] So P W, Fuller B J. Enhanced energy metabolism during cold hypoxic organ preservation: studies on rat liver after pyruvate supplementation[J]. Cryobiology, 2003, 46(3):295-300.
[18] Stanko R T, Tietze D L, Arch J E. Body composition, energy utilization, and nitrogen metabolism with a severely restricted food supplemented with dihydroxyacetone and pyruvate[J]. Am J Clin Nutr, 1992, 55(4):771-776.
[19] 牛倩芸,刘月涛,李震宇,等. 基于核磁代谢组学技术的阿霉素肝毒性研究[J]. 药学学报,2015,50(6):708-713.
[20] Patti M E, Corvera S. The role of mitochondria in the pathogenesis of type 2 diabetes[J]. Endocr Rev, 2010, 31(3):364-395.
[21] Holmes E, Nicholls A W, Lindon J C, et al. Chemometric models for toxicity classification based on NMR spectra of biofluids[J]. Chem Res Toxicol, 2000, 13(6):471-478.

[责任编辑 刘德文]