

基于尿液动态轨迹分析的慢性萎缩性胃炎生物标志物的筛选

薛倩倩^{a,b}, 秦雪梅^{a,b*}, 刘月涛^{a,b*} (山西大学, a. 中医现代研究中心; b. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 太原 030006)

摘要:目的 本实验旨在探讨慢性萎缩性胃炎(CAG)的发病机制,筛选其潜在的生物标志物。**方法** 采用脱氧胆酸钠溶液和氨水溶液配合饥饱失常法建立慢性萎缩性胃炎的模型,造模10周后,收集模型组与对照组大鼠的血浆及胃组织,检测血浆生化指标及胃组织的病理状况。造模期间收集0、4、6、8、10周模型大鼠的尿液,采用¹H-NMR的技术监测CAG大鼠不同造模时期尿液的代谢轮廓,并利用多元统计分析方法和相对距离公式刻画其代谢轮廓的动态变化。**结果** 通过代谢轮廓变化图发现造模第8周的损伤程度最大,并比较对照组与模型第8周的大鼠尿液代谢差异,筛选出了18种与CAG密切相关的潜在生物标志物,并发现它们分别参与了缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、TCA循环、肠道菌群代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、脂肪酸代谢、嘌呤代谢和尿素循环7条代谢途径,经MetPA分析显示,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、三羧酸循环(TCA)和缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成3条代谢途径为CAG发展最重要的代谢途径。**结论** 慢性萎缩性胃炎的发病机制可能与甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、TCA循环和缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成3条代谢途径的变化有关,为CAG的发病机制研究奠定基础。

关键词:慢性萎缩性胃炎;动态代谢组学;潜在生物标志物;机制研究

doi:10.11669/cpj.2019.14.006 中图分类号:R965 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)14-1148-06

Screening of Potential Biomarkers for Chronic Atrophic Gastritis Based on Urine Dynamic Metabolomics

XUE Qian-qian^{a,b}, QIN Xue-mei^{a,b*}, LIU Yue-tao^{a,b*} (a. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine; b. Shanxi Key Laboratory of Effective Substances Research and Utilization in TCM of Shanxi Province, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the mechanism of chronic atrophic gastritis (CAG) and screen the potential biomarkers. **METHODS** CAG model was established in rats by using sodium deoxycholate solution and aqueous ammonia solution in combination with hunger and satiety method. After 10 weeks, the plasma and gastric tissues of model rats and control rats were collected to detect plasma biochemical parameters and pathological conditions of gastric tissues. The urine of model rats at 0, 4, 6, 8, and 10 weeks was collected during modeling, and ¹H-NMR technique was used to monitor the metabolic profile of urine in different modeling periods of CAG rats. Multivariate statistical analysis method and relative distance formula were used to describe the dynamic changes of its metabolic profile. **RESULTS** Significant differences in urine metabolism were found between the control group and the model group at the 8th week. Eighteen potential biomarkers of CAG were screened out, which participated in the biosynthesis of valine, leucine and isoleucine, TCA cycle, gut flora metabolism, glycine, serine and threonine metabolism, fatty acid metabolism, purine metabolism, and urea cycle. MetPA analysis demonstrated that glycine, serine and threonine metabolism, TCA cycle, valine, leucine and isoleucine biosynthesis are the most important metabolic pathway for CAG development. **CONCLUSION** The pathogenesis of chronic atrophic gastritis may be related to the changes of glycine, serine and threonine metabolism, TCA cycle and the biosynthesis of valine, leucine and isoleucine. This finding laid the foundation for the study of the pathogenesis of CAG.

KEY WORDS: chronic atrophic gastritis; dynamic metabolomics; potential biomarker; mechanism research

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是消化系统的常见疾病之一,以胃脘部脾满疼痛,或脾满而无疼痛多见,世界卫生组织将其列为胃

癌前状态。临床研究表明,CAG与遗传、饮食、幽门螺旋杆菌感染等因素有关^[1],但其确切的机制还不明确。此外,CAG的常见疗法集中在症状治疗上,

基金项目:国家自然科学基金项目资助(31570346;81703697)

作者简介:薛倩倩,女,硕士研究生 研究方向:中医药代谢组学研究 *通讯作者:秦雪梅,女,教授,博士生导师 研究方向:中药质量评控及中医药代谢组学研究 Tel:(0351)7018379 E-mail:qinxm@sxu.edu.cn; 刘月涛,男,硕士生导师 研究方向:中医药代谢组学研究 Tel:15513836853 E-mail:yuetaliu@sxu.edu.cn

常常伴随着治疗不彻底和反复发作等副作用^[2]。因此,对 CAG 生物标志物的研究,有助于为临床的诊断及治疗提供新的见解。

代谢组学(metabolomics)是通过考察生物体系受刺激或扰动前后代谢产物的动态变化,研究生物体系的代谢网络的一种技术。由于代谢组学的内在敏感性,可以通过检测生物途径的微小变化,实现对各种生理及异常改变作用机制的洞察^[3]。因此本研究采用¹H-NMR 代谢组学的方法,动态刻画慢性萎缩性胃炎的发病进程,并结合多元统计分析寻找与慢性萎缩性胃炎密切相关的潜在生物标志物,为阐释慢性萎缩性胃炎的病理机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

AVANCE III NMR Spectrometer(德国布鲁克公司 600 MHz 核磁仪);SC-3610 低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);TGL-16 高速台式冷冻离心机(湘仪离心机仪器有限公司);Olympus BX5 显微镜(北京誉朗诺科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

脱氧胆酸钠(北京奥博星生物技术有限公司);生理盐水(0.9% 氯化钠,华北制药);重水(D₂O, Norell 公司,美国),3-(三甲基硅基)氘代丙酸钠(TSP, Cambridge Isotope Laboratories 公司,美国);超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、胃蛋白酶(PA)试剂盒(南京建成科技有限公司)。

1.3 动物

16 只 SD 大鼠,SPF 级,雄性,重量(180 ± 20)g [北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2012-0011]。饲养条件:温度(25 ± 2)℃,湿度(50 ± 10)%,采取标准饲料喂养,自由摄食饮水,明暗交替各 12 h。

1.4 实验设计

动物随机分为 2 组,对照组(control group)及模型组(model group),每组 8 只大鼠。模型组大鼠每日给予浓度为 20 mmol · L⁻¹的脱氧胆酸钠溶液,自由饮用,保证足量;每双日给予浓度为 0.1% 的氨水溶液,自由饮用,保证足量;饮食给予 2 d 足食,1 d 禁食;对照组给予正常的饮食和水。期间每隔 3 d 称重 1 次,循环实施 10 周。

造模期间,分别收集 0、4、6、8、10 周模型大鼠的尿液,3 500 r · min⁻¹,4 ℃,离心 10 min,取上清液。

第 10 周造模完成后,禁食 12 h,大鼠腹腔注射 20% 乌拉坦(0.75 mL · 100 g⁻¹体重)进行麻醉,腹主动脉收集血液后,3 500 r · min⁻¹,4 ℃,离心 20 min,取上清液。尿液和血浆均置于 -80 ℃ 保存备用。

1.5 血浆生化指标检测

根据酶试剂盒说明书测定血浆的生化指标 SOD、MDA 和胃组织的 PA 活力。

1.6 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色

将处死的大鼠胃部全部取出,沿胃大弯切开,去除胃内残渣物,用生理盐水冲洗后,以 10% 的中性甲醛溶液固定 48 h,常规石蜡包埋,切片厚度 4 mm,HE 染色,于光镜下观察胃组织的病理学改变。

1.7 核磁样品制备

分装的尿液样品于冰水中解冻,取尿液 400 μL 与 200 μL 磷酸缓冲液 Buffer(含 10% D₂O 和 0.05% TSP, pH 7.4),涡旋 30 s 后离心(13 000 r · min⁻¹, 4 ℃, 15 min),取上清 550 μL 于直径为 5 mm 的核磁管中检测。

尿液的¹H-NMR 实验均在 AVANCE III NMR Spectrometer(德国布鲁克公司 600 MHz 核磁仪)上进行,质子共振频率为 600.13 MHz,采用 NOESY GPR1D[(RD)-90°-t1-90°-tm-90°-acquisition]脉冲序列以压制水峰采集信号,采样温度 25 ℃,扫描次数为 64,谱宽 12 345.7 Hz,图谱大小 65 536 数据点,脉冲宽度(PW) = 30°(12.7 μs),傅里叶变换(LB) = 0.3 Hz,延迟时间为 1.0 s。

1.8 数据处理

采用 MestReNova(Version 8.0.1, Mestrelab Research, Santiago de Compostella, Spain)核磁图谱处理软件对所有¹H-NMR 图谱进行傅里叶转换及自动相位校正和基线校正,以 TSP(δ = 0.00)为内标。在 80.5 ~ 9.5 内,谱图按 δ = 0.01 分段积分,去除水峰(δ. 67 ~ 5.10)。将分段积分数据按图谱总面积归一化后所得数据矩阵导入 SIMCA-P 13.0(Umetrics 公司, Sweden),进行 OPLS-DA 分析。另外,使用 SPSS16.0 软件,采用独立样本 *t* 检验对差异代谢物进行显著性检验。

2 结果

2.1 大鼠体重变化趋势

对照组(C)与模型组(M)大鼠的体重变化见图 1,从图 1 中可以看出,模型组大鼠的体重始终低于正常组,且体重增长趋势较正常组缓慢,可以初步判断慢性萎缩性胃炎模型复制成功。

2.2 血浆生化指标

大鼠血浆中 SOD、丙二醛(MDA)的含量以及胃组织中胃蛋白酶的活力值(pepsin activity, PA)见表 1。从表 1 可见,模型组动物血浆的 SOD 水平显著降低($P < 0.05$),而 MDA 的含量明显高于对照组($P < 0.01$)。据报道^[4],SOD 可在一定程度上反映机体清除自由基能力的大小,MDA 是脂质过氧化的最终分解产物,可与脂质过氧化中间产物自由基损伤膜结构,改变膜成分的活性及抗原性而影响膜的正常功能。因此,SOD 活性降低,MDA 含量增加,可以反映出模型组大鼠体内氧自由基发生显著紊乱。此外,表 1 中模型组动物胃蛋白酶活力 PA 值显著下降($P < 0.01$),胃蛋白酶是胃液中的主消化酶,胃蛋白酶原在胃酸的作用下,裂解生成胃蛋白酶,这种裂解作用仅仅在 pH 5 以下时进行,且以 pH 1.8 ~ 3.5 之间为宜,当 pH 值升高时,胃蛋白酶即失去活性^[5]。因此,SOD、MDA 及 PA 值的变化均证实慢性萎缩性胃炎模型成功建立。

2.3 胃组织切片光镜图分析

大鼠胃组织切片光镜图(图 2)显示,在第 10 周,对照组大鼠胃黏膜上皮细胞排列整齐,未见脱落,黏膜层下的腺体形状正常,腺上皮细胞多呈单层排列(图 2A)。模型组大鼠胃组织可见黏膜层

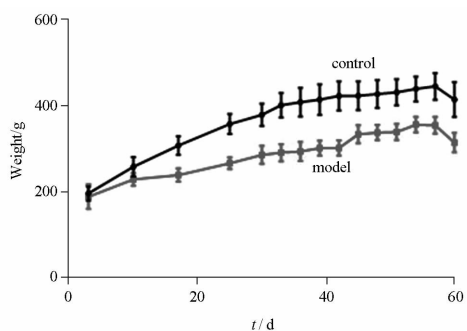


图 1 对照组与模型组大鼠体重变化趋势. $n = 8, \bar{x} \pm s$

Fig. 1 The weight change trend of control group and model group. $n = 8, \bar{x} \pm s$

表 1 造模前后各组大鼠 SOD、MDA 及 PA 值变化情况. $n = 8, \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Changes of SOD, MDA and PA in control and model rats. $n = 8, \bar{x} \pm s$

Group	SOD/U · mL ⁻¹	MDA/nmol · mL ⁻¹	PA/U · mg(pro) ⁻¹
Control	194.48 ± 14.75	4.73 ± 0.48	1.46 ± 0.19
Model	173.62 ± 17.14 ¹⁾	8.12 ± 0.93 ²⁾	0.76 ± 0.11 ²⁾

注:与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$

Notes: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, compared with control group

变薄,部分黏膜脱落,前胃黏膜下可见水肿并伴有嗜酸性粒细胞浸润;前后胃交界处腺体萎缩,固有腺体减少等慢性萎缩性胃炎的病理学特征(图 2B),与文献^[6]报道一致。

2.4 ¹H-NMR 尿液代谢组学

2.4.1 动态代谢轨迹 对不同造模期间大鼠的尿液¹H-NMR 代谢物进行有监督的偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA),结果见图 3A,每个造模时间段的样本有明显的聚类趋势,且 5 个阶段模型组明显分离。同时可见,造模第 8 周时大鼠尿液代谢轮廓距空白组最远,而第 10 周有所回调。

另外,采用一种计算相对距离的方法^[7],通过计算造模各阶段模型组与对照组之间的相对距离(D_i),将各造模阶段大鼠尿液代谢轨迹的动态变化进行量化,结果可知,造模期间的相对距离变化为,第 4 周:11.044 4;第 6 周:25.793 5;第 8 周:35.324 9;第 10 周:24.530 9。可知,造模第 4、6、8 周模型组的(D_i)值逐渐增大,而造模第 10 周的模型组(D_i)值反而较第 8 周减小。即造模第 4、6、8 周的模型组逐渐远离 0 周(对照组)模型大鼠,在造模第 10 周转变为靠近 0 周(对照组)模型大鼠。将相对距离计算公式得到的数据导入 Origin 8.0 软件中,得到不同造模阶段各组大鼠尿液的代谢轨迹动态图(图 3B)。从图 3B 中可以更直观看出 5 个造模阶段大鼠的动态变化,可以看出造模第 8 周(M3)与对照组偏离较大。结果表明,模型在复制第 8 周时偏离程度最大,代谢调控网络变化最大,因此初步认为模型第 8 周的损伤程度最大。

2.4.2 潜在生物标志物分析 经过“2.4.1”项下动态代谢轨迹分析发现,造模第 8 周时 CAG 模型损伤程度最大,而第 10 周有所回调。因此,借助 OPLS-DA 分析方法对造模第 8 周与正常对照组大鼠的尿液代谢轮廓进一步分析,可见散点图

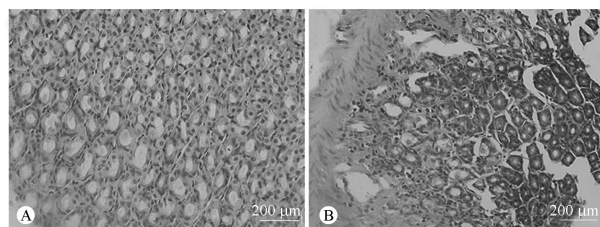


图 2 大鼠胃组织切片光镜图

A - 空白组; B - 模型组

Fig. 2 Light microscope photos of rat stomach tissue section at the 10th week

A - contro group; B - model group

(图 4A)中对照组(C)和模型组(M:造模 8 周)明显分开。并从 S-plot 图(图 4B)中筛选出 VIP > 1 的化合物定为潜在生物标志物。最终选出了 18 种潜在的生物标志物(图 4 和表 2)。经过比较分析,造模 8 周的大鼠尿液中异亮氨酸(isoleucine)、 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate)、D-甘露糖-D-葡聚糖(DMG)、丙二酸(malonic acid)、肌氨酸(sarcosine)、甜菜碱(betaine)、甘氨酸(glycine)、乙酸鸟苷(guanidinoacetate)和尿囊素(allantoin)含量较空白对照组显著降低,而缬氨酸(valine)、3-羟基丁酸(3-hydroxybutyric)、醋酸(acetic acid)、琥珀酸(succinic acid)、二甲胺(dimethylamine)、三甲胺(trimethylamine, TMA)、马尿酸(hippurate)、富马酸(fumaric acid)和葫芦巴碱(trigonelline)的含量显著升高。

根据代谢通路数据库 KEGG 及相关文献提供信息,对尿液中鉴定的潜在生物标志物参与的代谢通路进行归纳,发现 18 个潜在的尿液代谢产物参与了 7 条代谢途径,包括缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成(valine, leucine and isoleucine biosynthesis)、TCA 循环(TCA cycle)、肠道菌群代谢(gut flora metabolism)、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(glycine, serine and threonine metabolism)、脂肪酸代谢(fatty acid metabolism)、嘌呤代谢(purine metabolism)和尿素循环(urea cycle)。

2.4.3 尿液代谢通路分析 MetPA 分析结果显示,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、TCA 循环和缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成 3 条代谢途径为 CAG 发展最重要的代谢途径(图 5),在 CAG 的发展过程中起着重要作用。

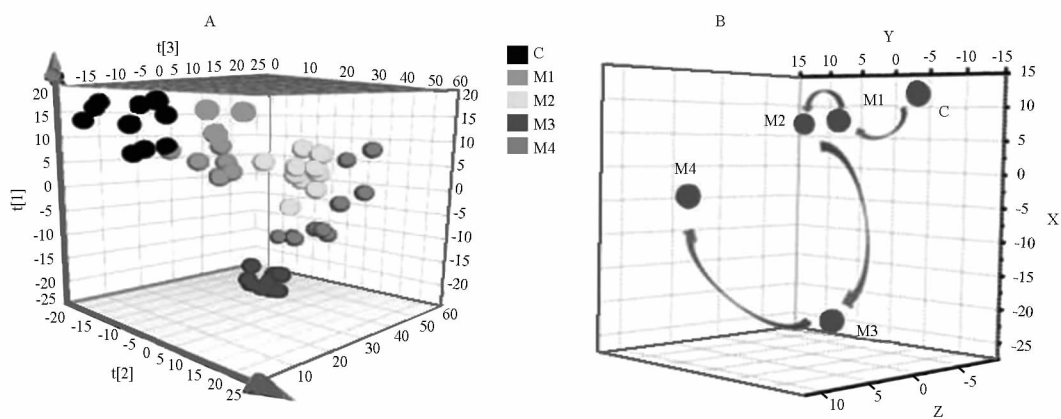


图 3 不同造模时间段大鼠尿液代谢轨迹变化(A)和造模各阶段模型组与正常对照组之间的相对距离(B)
C - 对照组; M1 - 造模 4 周; M2 - 造模 6 周; M3 - 造模 8 周; M4 - 造模 10 周

Fig. 3 Changes of rat urine metabolism traits in different modeling periods(A) and the relative distance between the model group and the normal control group at each stage of modeling(B)

C - control group; M1 - 4th weeks model group; M2 - 6th week model group; M3 - 8th week model group; M4 - 10th week model group

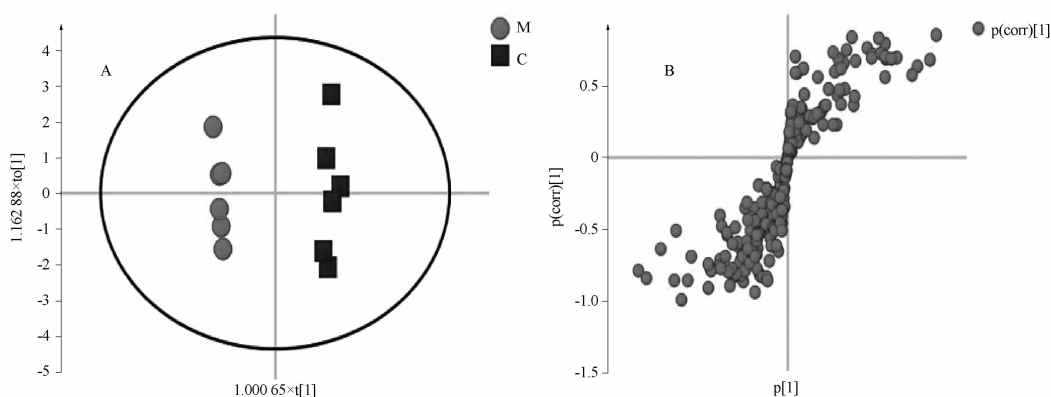


图 4 对照组(C)和模型组(M)大鼠尿液 OPLS-DA 散点图(A)和 S-Plot 图(B)

Fig. 4 OPLS-DA score plots (A) and S-plots (B) from urine of control (C) and model (M) rats

表 2 基于¹H-NMR 对大鼠尿液中潜在生物标志物分析

Tab. 2 Potential biomarkers identified in the rat urine samples based on ¹H-NMR

No.	Metabolites	Moieties	Chemical shifts	VIP	Trend	Pathway
U1	Isoleucine	CH ₃	0.94(t)	1.63	↓ ²⁾	Valine, leucine and isoleucine biosynthesis
U2	Valine	γCH ₃ , γ'CH ₃	1.04(d), 2.27(m), 3.65(d)	1.23	↑ ¹⁾	
U3	3-Hydroxybutyrate	CH	1.24(d)	1.84	↑ ²⁾	TCA cycle
U4	Acetate	CH ₃	1.92(s)	1.29	↑ ¹⁾	Fatty acid metabolism
U5	Succinate	CH ₂	2.41(s)	1.47	↑ ²⁾	TCA cycle
U6	α-Ketoglutarate	CH ₂ , CH ₂	2.44(t), 3.01(t)	1.18	↓ ¹⁾	
U7	Dimethylamine	CH ₃	2.76(s)	1.24	↑ ¹⁾	Gut flora metabolism
U8	TMA	CH ₃	2.88(s)	1.40	↑ ²⁾	
U9	DMG	N-CH ₃ , CH ₂	2.92(s), 3.72(s)	1.02	↓ ¹⁾	Glycine, serine and threonine metabolism
U10	Malonate	CH ₂	3.12(s)	1.47	↓ ¹⁾	Urea cycle
U11	Sarcosine	CH	2.72(s), 3.60(s)	1.12	↓ ¹⁾	Glycine, serine and threonine metabolism
U12	Betaine	N(CH ₃) ₃ , CH ₂	3.28(s), 3.94(s)	1.26	↓ ¹⁾	
U13	Glycine	CH ₂	3.54(s)	1.12	↓ ¹⁾	
U14	Guanidinoacetate	CH ₂	3.80(s)	1.52	↓ ²⁾	Urea cycle
U15	Hippurate	CH ₂ , CH, CH, CH	3.97(d), 7.55(t), 7.64(t), 7.87(d), 7.84(d)	1.26	↑ ¹⁾	Gut flora metabolism
U16	Allantoin	CH	5.4(s)	1.66	↓ ²⁾	Purine metabolism
U17	Fumarate	CH = CH	6.52(s)	1.53	↑ ²⁾	TCA cycle
U18	Trigonelline	1-CH, 2/4-CH, 3-CH	9.16(s), 8.84(dd), 8.80(d)	1.49	↑ ²⁾	Gut flora metabolism

注: s - 单峰; d - 双峰; t - 三峰; q - 四重峰; m - 多重峰; dd - dd 峰; 模型组与对照组比较, ↑ - 代谢物的增加, ↓ - 减少; 与对照组比较, ¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01

Notes: s - singlet; d - doublet; t - triplet; q - quartet; m - multiplet; dd - doublet of doublet; ↑ - metabolite increased, ↓ - metabolite decreased, CAG group compared with control group; ¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01, compared with control group

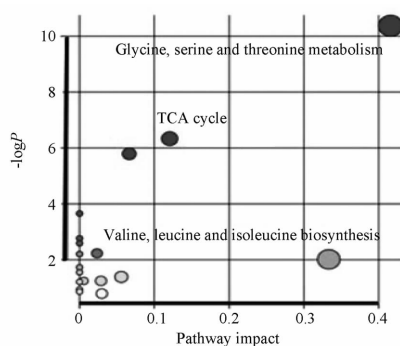


图 5 尿液代谢通路的 MetPA 分析

Fig. 5 MetPA analysis of urine metabolic pathway

2.4.4 生物学意义阐释 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成 (valine, leucine and isoleucine biosynthesis): 异亮氨酸 (isoleucine, U1) 和缬氨酸 (valine, U2) 均属于支链氨基酸, 在机体能量代谢过程中发挥重要作用。并且有研究表明, 胃癌患者的尿液中缬氨酸, 异亮氨酸和亮氨酸水平增加^[8], 可见, 该代谢通路在胃部的病变过程中发挥重要作用。虽然支链氨基酸的结构相似, 但异亮氨酸是一种生糖和生酮的氨基酸, 而缬氨酸是一种生糖氨基酸, 它们有不同的代谢途径, 这可能是他们在 CAG 大鼠尿样中变化趋势相反的原因之一。

TCA 循环 (TCA cycle): 3-羟基丁酸 (3-hydroxy-

butyric, U3)、琥珀酸 (succinic acid, U5)、α-酮戊二酸 (α-ketoglutaric acid, U6) 和富马酸 (fumarate, U17) 是三羧酸循环 (TCA) 4 个中间体, 介导机体体内的能量代谢。在 CAG 大鼠中, 它们的含量发生改变, 可能是 TCA 循环发生紊乱的原因。MetPA 分析也显示该通路与 CAG 的发展密切相关, 可以作为 CAG 潜在的生物标志物。

肠道菌群代谢 (gut flora metabolism): 二甲胺 (dimethylamine, U7)、三甲胺 (TMA, U8)、马尿酸 (hippuric acid, U15) 和胡芦巴碱 (trigonelline, U18) 是由胆碱^[9]或部分氨基酸^[10]经肠道微生物代谢产生的, 是肠道菌群代谢过程所产生的重要代谢物。肠道菌群与胃肠的正常生命活动息息相关, 在 CAG 大鼠中出现与肠道菌群代谢有关的代谢产物的变化, 说明 CAG 的形成与肠道菌群有密切联系。

甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 (glycine, serine and threonine metabolism): 代谢物 DMG (U9)、肌氨酸 (sarcosine, U11)、甜菜碱 (betaine, U12) 和甘氨酸 (glycine, U13) 参与了甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢, 该条途径可为 TCA 循环提供重要的能量代谢前体。研究表明, 机体内的甜菜碱与乙酰水杨酸 (ASA) 诱导的胃损伤相关^[11], 主要体现在胃黏膜病理变化中。另外有报道, 甘氨酸可以剂量依赖性地

降低大鼠胃液的分泌,同时还可以保护动物免受应激、吡啶美辛和坏死剂诱导的胃损伤^[12],可见甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路在CAG的发展中有重要意义。

脂肪酸代谢(fatty acid metabolism):醋酸(acetic acid,U4)是脂肪酸 β -氧化的一个重要产物,其含量在CAG大鼠尿液中升高,表明CAG大鼠脂肪酸代谢受损。

嘌呤代谢(purine metabolism):尿囊素(allantoin,U16)是一种嘌呤代谢产物。尿液中尿囊素可能提示非酶途径下高水平的活性氧物的存在,为此,尿囊素可作为氧化应激的标志物。本实验中,它的减少可能会促进氧化应激,从而导致CAG的发展。

尿素循环(urea cycle):丙二酸(malonic acid,U10)和乙酸鸟苷(guanidinoacetate,U14)是尿素循环中重要代谢物。粘蛋白可以形成对胃酸、消化蛋白酶、脂肪酶和细菌等侵袭性因子的保护屏障^[13]来保护胃黏膜,而O-聚糖是粘蛋白的主要成分,据报道丙二酸可以抑制O-聚糖的降解,从而促进粘蛋白的形成,起到防止胃损伤的作用^[14]。

3 讨论

尿液是最易于收集的生物体液,其所含代谢物的组成及浓度受机体各系统功能状态的直接影响,能够及时有效地反映机体的代谢变化^[15]。采用NMR技术对慢性萎缩性胃炎不同造模阶段大鼠的尿液样本进行检测,并通过动态监测大鼠的代谢轮廓变化,找出造模第8周的模型大鼠损伤程度最大,而造模第10周的代谢轮廓从动态变化图及相对距离图上看,是有所回调的,造成这种现象的原因还需继续探讨。

由于模型第8周损伤程度最大,因此本实验比较了第8周模型组与对照组大鼠尿液¹H-NMR图谱,发现了18个差异较大的潜在生物标志物,通过对不同造模阶段潜在生物标志物的动态分析,找到其含量的变化规律,并进行通路分析发现,这18种潜在生物标志物主要参与了7条代谢通路。经MetPA相关分析得出,慢性萎缩性胃炎主要造成甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,TCA循环和缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成3条代谢途径的紊乱,为

慢性萎缩性胃炎的发病机制研究奠定了基础。

REFERENCES

- [1] LUO G G. Study of correlation between pathological diagnosis and endoscopic diagnosis of chronic atrophic gastritis[J]. *Mod Diagn Treat* (现代诊断与治疗), 2013, 24(6):1395-1396.
- [2] PARK Y H, KIM N. Review of atrophic gastritis and intestinal metaplasia as a premalignant lesion of gastric cancer[J]. *J Cancer Prev*, 2015, 20(1):25-40.
- [3] JOHNSON C H, IVANISEVIC J, SIUZDAK G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(7):451-459.
- [4] JIANG S H, LIU W G, WANG X P, et al. Effect of Huangqi Jianzhong Decoction on hemogram, blood and gastric mucosa biochemical indexes in rats with chronic atrophic gastritis of spleen deficiency type[J]. *China J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 2006, 12(4):279-281.
- [5] CHENG Y A. Effects of acupuncture and moxibustion on total acidity and pepsin activity in gastric juice of rats with chronic atrophic gastritis[J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 2002, 9(6):323-324.
- [6] SI J M, WU J G, CAO Q, et al. Establishment of chronic atrophic gastritis and study of the factors inducing atrophy in a rat model[J]. *Chin Med J* (中华医学杂志), 2001, 114(12):75-78.
- [7] ZHANG Z Z, FAN M L, HAO X, et al. Integrative drug efficacy assessment of Danggui and European Danggui using NMR-based metabolomics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 120:1-9.
- [8] JING F, JING H, HU J D, et al. Ion chromatography based urine amino acid profiling applied for diagnosis of gastric cancer[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2012, 2012(3):doi: 10.1155/2012/474907.
- [9] ROMANO K A, VIVAS E I, AMADORNOCUEZ D, et al. Intestinal microbiota composition modulates choline bioavailability from diet and accumulation of the proatherogenic metabolite trimethylamine-N-oxide[J]. *Mbio*, 2015, 6(2):doi: 10.1128/mBio.02481-14.
- [10] ABU A B S, MEDIANI A, MAULIDIANI, et al. Effect of ipomoea aquatica ethanolic extract in streptozotocin (STZ) induced diabetic rats via¹H NMR-based metabolomics approach[J]. *Phytomedicine*, 2017, 36:201-209.
- [11] ZÖLLE I, SZABÓ A, KASZAKI J, et al. Betaine-palmitate reduces acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2001, 36(8):811-816.
- [12] TARIQ M, AL MOUTAERY A R. Studies on the antisecretory, gastric anti-ulcer and cytoprotective properties of glycine[J]. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 1997, 97(2):185-198.
- [13] CORFIELD A P. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1850(1):236-252.
- [14] GOSO Y. Malonic acid suppresses mucin-type O-glycan degradation during hydrazine treatment of glycoproteins[J]. *Anal Biochem*, 2016, 496:35-42.
- [15] WANG C L, XUE R, ZHAN Y Y, et al. Urine metabolomics study on chronic renal failure in rats after N-acetylcysteine protection with sputum-diethylenetriamine pentaacetic acid[J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2017, 45(9):1271-1277.

(收稿日期:2018-12-13)