

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.04.001

# 基于液质联用技术的慢性肾脏病不同阶段患者血浆代谢组学研究<sup>\*</sup>

关欣<sup>1</sup>, 王帅<sup>2,3,4</sup>, 李天娇<sup>2,3,4</sup>, 包永睿<sup>2,3,4</sup>, 孟宪生<sup>2,3,4△</sup>

(1. 北部战区总医院肾脏病科, 沈阳 110016; 2. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600; 3. 辽宁省组分中药工程技术研究中心, 辽宁大连 116600; 4. 辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁大连 116600)

**摘要:**目的 对慢性肾脏病(CKD)不同阶段患者血浆差异化合物进行分析,探讨 CKD 发病机制,为前期诊断提供依据。**方法** 采用液质联用技术的代谢组学方法,绘制 CKD I~III、IV、V 期患者及健康对照者血浆代谢轮廓谱,利用 Agilent MPP 12.1 软件进行单因素方差分析、倍数检验及主成分分析等数据模式识别,寻找各组中血浆差异化合物,并对差异化合物进行结构鉴定与代谢通路分析。**结果** 多变量统计分析结果显示,不同阶段 CKD 患者血浆标本存在明显差异,在血浆中找到鞘氨醇、牛磺酸、原卟啉 IX 等 27 个差异化合物。**结论** 不同阶段 CKD 患者血浆中胆红素循环、鞘脂类代谢、类固醇类代谢等通路出现紊乱,该研究为 CKD 的临床诊断与治疗提供参考。

**关键词:**慢性肾脏病; 代谢组学; 血浆差异化合物

中图法分类号:R692

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)04-0433-05

## Study on plasma metabolomics of patients with different stages of chronic kidney disease based on HPLC-Q/TOF technology<sup>\*</sup>

GUAN Xin<sup>1</sup>, WANG Shuai<sup>2,3,4</sup>, LI Tianjiao<sup>2,3,4</sup>, BAO Yongrui<sup>2,3,4</sup>, MENG Xiansheng<sup>2,3,4△</sup>

(1. Department of Nephrology, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang, Liaoning 110016, China; 2. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian, Liaoning 116600, China; 3. Liaoning Provincial Multi-Component Chinese Medicine Engineering Technology Research Center, Dalian, Liaoning 116600, China; 4. Liaoning Provincial Modern Traditional Chinese Medicine Research and Engineering Laboratory, Dalian, Liaoning 116600, China)

**Abstract: Objective** To analyze the plasma differential components in the patients with different stages of chronic kidney disease (CKD), and to probe the pathogenesis of CKD in order to provide a basis for previous diagnosis. **Methods** The metabolomic method based on HPLC-Q/TOF technology was used to draw the plasma metabolic profiles in the patients with CKD stage I - III, IV and V and healthy controls. The data mode recognition of single factor analysis of variance, multiple testing and principal component were performed by using the Agilent MPP 12.1 software. The plasma differential compounds in each group were sought. The structures of different compounds were identified and the metabolic pathways were analyzed. **Results** The multivariate statistical analysis results showed that the plasma samples in the patients with different stages of CKD had obvious difference, and 27 different compounds in the plasma such as sphingosine, taurine, protoporphyrin IX were found. **Conclusion** The metabolic pathways of bilirubin circulation, sheath lipid metabolism and steroid metabolism in plasma of the patients with different stages of CKD appear the disorder, this study provides reference for the clinical diagnosis and treatment of CKD.

**Key words:** chronic kidney disease; metabolomics; plasma different compounds

近 10 年来,随着慢性肾脏病(CKD)的患者越来越多,CKD 已经和心脑血管病、癌症、糖尿病等疾病成为威胁人类健康的主要杀手<sup>[1]</sup>。CKD 可分为 5 期:1 期为肾小球滤过率(GFR)正常或升高,GFR $\geq$ 90 mL/(min $\cdot$ 1.73 m<sup>2</sup>);2 期为 GFR 轻度降低,GFR 在 60~<90 mL/(min $\cdot$ 1.73 m<sup>2</sup>);3 期为 GFR 中度降低,

GFR 在 30~<60 mL/(min $\cdot$ 1.73 m<sup>2</sup>);4 期为 GFR 重度降低,GFR 在 15~<30 mL/(min $\cdot$ 1.73 m<sup>2</sup>);5 期为终末期肾病,GFR<15 mL/(min $\cdot$ 1.73 m<sup>2</sup>)或透析<sup>[2]</sup>。随着系统生物学各项技术的不断发展,寻找能够准确诊断不同阶段肾病的标志物已成为 CKD 早期诊断、治疗的研究热点。本研究采用液质联用技术,对不同

\* 基金项目:辽宁省特聘教授项目[辽教发(2014)187号];辽宁省高等学校优秀人才支持计划资助项目(LR2013044)。

作者简介:关欣,男,副主任医师,主要从事慢性肾病与难治性肾病基础与临床研究。△ 通信作者,E-mail:mxsvvv@126.com。

期CKD患者血浆代谢组学进行分析,寻找影响疾病发生、发展的血浆差异化合物,探讨肾病发展代谢通路与机制,为CKD的临床诊断与合理治疗提供数据支持,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择2013年7月至2015年9月北部战区总医院肾脏病科的60例住院CKD患者为CKD组,根据2003年《慢性肾脏病及透析的临床实践指南》<sup>[3]</sup>,均符合CKD的诊断标准。其中男37例,女23例,年龄40~75岁,平均(55.4±12.9)岁,I~III、IV、V期各20例。记录患者的性别、年龄、住院号、病因、功能诊断、病程、收缩压和舒张压、血红蛋白、尿量、肾功能(肌酐和尿素氮)、清蛋白等项目。血压取患者入院当日平静、卧床所测数值。血常规及肾功能取患者入院后首次清晨空腹所测数值。健康对照组20例,来自沈阳军区总医院体检中心,其中男8例,女12例。本研究方案已经伦理委员会批准,研究对象已知情同意并签署知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** 主要试剂包括色谱级乙腈、甲醇(德国Merck公司),色谱级甲酸(天津市科密欧化学试剂有限公司),超纯水(由Milli-Q超纯水系统制备),其他试剂均为分析纯。主要仪器包括Agilent1100高效液相色谱仪(美国安捷伦公司),Agilent G1969A QTOF-MS(美国安捷伦公司),超低温冰箱(-80℃,New Brunswick Scientific公司),H1650-W离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 样品采集及预处理** 取初诊CKDI~III、IV、V期患者及健康对照者各20例,其肌酐、尿酸、尿素、血红蛋白等指标结果见表1。血浆样品采集后置于-80℃保存。分析前,将样品从冰箱取出,室温解冻,取50μL血浆加入200μL甲醇,涡旋3min,4℃13000r/min离心15min,取上清液,氮气吹干,50μL80%乙腈复溶,4℃13000r/min离心15min,取上清液即得。同时,取初诊CKDI~III期患者血浆各50μL混合,按照上述方法制得质控QC样品。

表1 研究对象生化指标结果(n=20,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	肌酐(μmol/L)	尿酸(μmol/L)	尿素(mmol/L)	血红蛋白(g/L)	清蛋白(g/L)	三酰甘油(mmol/L)
健康对照组	102.50±18.98	259.70±28.83	5.18±0.72	145.16±11.22	45.64±5.71	1.27±0.19
CKD患者组						
I~III期	858.85±115.12*	468.55±35.5*	26.92±3.88*	73.12±8.92*	31.79±2.89*	1.87±0.26*
IV期	558.90±63.50*	455.95±38.54*	19.09±2.88*	81.16±7.41*	38.64±3.96*	2.89±0.42*
V期	309.15±53.42*	379.80±37.79*	10.18±1.58*	115.68±7.71*	41.37±2.85	3.06±0.41*

注:与健康对照组比较,\*P<0.05

**1.3.2 血浆样品分析条件** 色谱条件:色谱柱 Agilent Poroshell 120 SB-C<sub>18</sub> column (100 mm×4.6 mm, 2.7 μm);流动相为 A-0.1%甲酸水溶液, B-乙腈,梯度洗脱:0~3 min,乙腈 25%~69%;3~5 min,乙腈 69%~87%;5~12 min,乙腈 87%~98%;12~17 min,乙腈 98%~98%;流速 1 mL/min;分流比 3:1;柱温 45℃;进样量 4 μL。质谱条件:电喷雾离子源(Dual ESI),采用正离子模式检测;用 350℃气体干燥,流速为 9 L/min;毛细管电压为 4 000 V,雾化器压力为 45 psig,Skimmer 为 65 V。碎裂电压为 125 V, OCT 1RF V<sub>pp</sub> 为 250 V。用质心模式采集,速率为 1.5 Spectra/s, m/z 50~1 050。采用校正混合溶液(Agilent, USA, m/z=112.985 587, 1 033.988 109)作为锁定质量。二级质谱采用 Q-TOF(Xevo G2)鉴定,正离子模式检测,碰撞能量为 20 eV。

**1.4 统计学处理** 样品采用液质联用技术[高效液相飞行时间质谱仪(HPLC-Q/TOF)]进行检测,得到样品的总离子流色谱图,利用 Agilent Qualitative Analysis B.04.00 软件中 Molecular Feathers Extraction(MFE)功能提取原始数据中化合物信息,并计算其精确相对分子质量。Agilent MPP 12.1 软件进行

峰匹配、峰对齐、峰提取、峰强度校正和归一化等处理,筛选出 P<0.05、f>2 的差异化合物,再对所得的数据进行主成分(PCA)分析。差异化合物经二级质谱(MS/MS)鉴定,再结合 KEGG、HMDB、METLIN 等数据库进行代谢通路分析<sup>[4-5]</sup>。

## 2 结果

**2.1 各组代谢轮廓分析结果** 采用所建立的样品处理方法和液质联用条件对血浆样品进行分析,得到的CKDI~III、IV、V期患者及健康对照者的血浆轮廓图谱,见图1。

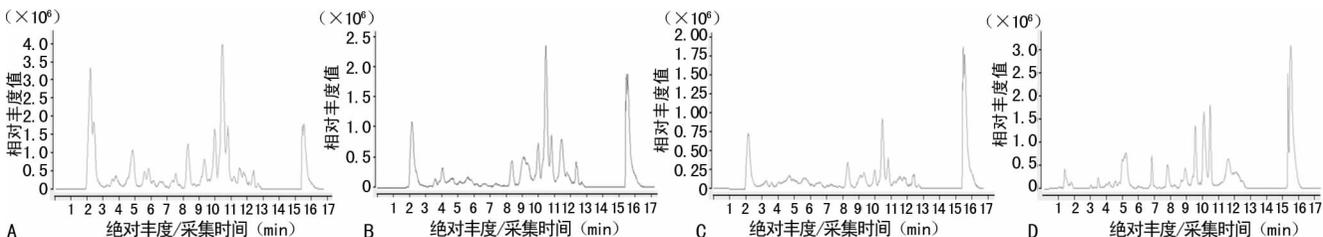
**2.2 单因素方差分析、倍数检验结果** 采用 Agilent MPP 12.1 软件对 HPLC-Q/TOF 得到的血浆数据进行色谱峰匹配,最终得到包含 4 896 个化合物的信息表。再分别对各组之间进行比较,结果相对于健康对照组,CKDI~III期患者组有 488 个化合物差异有统计学意义(P<0.05),CKDIV、V期患者组分别有 412 个及 240 个化合物差异有统计学意义(P<0.05)。

**2.3 PCA 分析结果** 各组血浆样品 PCA 三维得分散点图,见图2。由图2可知,第一主成分贡献率为 73.27%,第二主成分贡献率为 8.42%,第三主成分贡献率为 4.98%,累积贡献率为 86.67%,说明此三维图

可更好地反映各组数据的分类情况。可以看出健康对照组和 CKD 各患者组之间空间距离非常大,表示 CKD 患者和健康对照者血浆中内源性物质有显著性的变化,CKD 各组间内源性物质差异也有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.4 差异内源性化合物鉴定结果** 经一、二级质谱解析,结合相关数据库与文献查询,共找到 27 个与

CKD 发生相关的差异内源性化合物,其中 8 个在 CKD 不同阶段均上调,8 个在 CKD 不同阶段均下调;5 个在 CKD I ~ III 期下调,CKD IV ~ V 期上调;2 个在 CKD I ~ III 期上调,CKD IV ~ V 期下调;1 个在 CKD I ~ IV 期上调,CKD V 期下调;3 个在 CKD I ~ III、V 期调节趋势一致,CKD IV 期相反,鉴定结果与变化趋势见表 2。



注:A 为 CKD I ~ III 期患者;B 为 CKD IV 期患者;C 为 CKD V 期患者;D 为健康对照者

图 1 各组血浆代谢轮廓图

表 2 CKD 患者血浆中内源性差异化合物鉴定信息表

序号	保留时间 (min)	精确相对分子质量	分子式	鉴定化合物	变化趋势		
					I ~ III 期/空白	IV 期/空白	V 期/空白
1	2.74	169.005 3	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>5</sub> S	磺基丙氨酸	↓	↑	↓
2	4.56	564.277 5	C <sub>34</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	原卟啉 IX	↓	↑	↑
3	4.58	264.111 4	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	犬尿氨酸	↑	↑	↑
4	4.64	584.283 3	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>12</sub>	哇巴因	↑	↑	↑
5	5.59	809.125 8	C <sub>23</sub> H <sub>38</sub> N <sub>7</sub> O <sub>17</sub> P <sub>3</sub> S	乙酰辅酶 A	↓	↓	↓
6	6.93	360.442 1	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>	醛固酮	↓	↓	↓
7	7.94	582.250 1	C <sub>33</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	胆绿素 IX	↑	↑	↑
8	8.06	515.700 0	C <sub>26</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>7</sub> S	牛磺酸	↓	↓	↓
9	8.09	273.266 9	C <sub>16</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>2</sub>	二氢鞘氨醇	↑	↑	↑
10	8.13	336.230 6	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	11-脱氧前列腺素 E2	↓	↑	↑
11	8.39	322.254 0	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	(±)5-羟基二十碳四烯酸	↑	↑	↑
12	8.39	296.235 3	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	13S-羟基-9E,11Z-亚油酸	↓	↑	↓
13	8.88	379.2493	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub> NO <sub>5</sub> P	鞘氨醇-1-磷酸	↑	↑	↑
14	9.09	517.316 3	C <sub>26</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P	亚麻酰基溶血卵磷脂	↓	↑	↑
15	9.10	301.298 7	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>2</sub>	鞘氨醇	↓	↓	↓
16	9.58	481.316 7	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P	GPEtn(18:0/0:0)	↓	↑	↑
17	10.30	458.260 1	C <sub>26</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	N-(4-苯磺酰胺)花生四烯胺	↑	↓	↓
18	10.44	280.240 8	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	13E,17-十八碳二烯酸	↑	↑	↑
19	10.71	300.173 9	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	雌三烯	↑	↓	↓
20	10.99	290.224 6	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	雄酮	↓	↓	↓
21	11.27	428.327 3	C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O <sub>3</sub>	5(E)-1 $\alpha$ ,25-dihydroxy-24-epi-vitamin D <sub>2</sub>	↓	↓	↓
22	11.78	442.342 2	C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	癸酸鞣酮	↓	↓	↓
23	12.35	889.632 0	C <sub>48</sub> H <sub>91</sub> NO <sub>11</sub> S	C24:1 磷脂	↑	↑	↑
24	12.41	889.648 4	C <sub>48</sub> H <sub>91</sub> NO <sub>13</sub>	乳糖苷	↓	↓	↓
25	13.80	584.663 9	C <sub>33</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	胆红素	↑	↓	↑
26	15.01	318.182 6	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	辅酶 Q2	↑	↑	↓
27	15.39	257.113 0	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	四氢生物蝶呤	↓	↑	↑

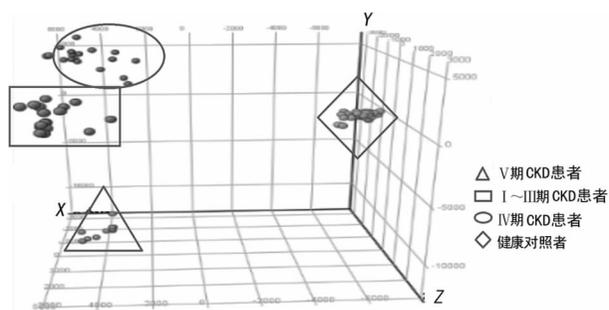


图2 各组血浆样品 PCA 三维得分散点图

### 3 讨 论

CKD是由于肾功能减退而引起的高血压、贫血、心力衰竭、脑病、骨病、水电解质酸碱平衡紊乱等一系列并发症的综合征,影响了身体多个器官。由于肾病为代谢性疾病,随着病情的加重,体内功能指标水平趋于健康人体内指标,相关病理指标呈现由强变弱、回归正常的趋势,同时,体内差异化合物,也呈现减少的同步趋势。体内差异化合物,如磺基丙氨酸为丙氨酸体内的衍生物,在不同阶段CKD患者中呈现由低到高的过程,其原因可能与体内蛋白质代谢能力减弱有关;13S-羟基-9E,11Z-亚油酸为亚油酸体内的衍生物,在不同阶段CKD患者中也呈现由低到高的过程,其原因可能与体内脂代谢能力减弱有关。但上述两个差异化合物到了疾病后期,均呈现趋于假阳性情况,指标水平呈现反转的趋势,分析原因是由于CKD末期时,为维持正常的生理功能,采用多种治疗手段导致其指标趋于正常所致。

本研究采用代谢组学研究方法,结合KEGG、HMDB、METLIN等数据库及相关文献分析,发现CKD的发生、发展与胆红素循环、鞘脂类代谢、类固醇类代谢等多条代谢途径有关。

**3.1 胆红素循环途径** 在上述通过代谢组学发现的差异化合物中,原卟啉IX、胆绿素IX、胆红素的代谢与胆红素循环有关。当肾功能出现障碍时,尿液中原卟啉IX水平会有所增加,在空气中放置,尿液会被氧化变成褐色,且病情越重尿液的颜色越深,刺激性味道越大。本研究检测到CKDI~III期患者血浆中原卟啉IX水平较健康对照组低,但在CKDIV~V期患者中血浆中原卟啉IX水平较健康对照组高,可考虑将原卟啉IX作为CKD晚期的血液参考指标。胆绿素是血红蛋白的代谢产物,健康人的胆囊和血浆中是没有胆绿素的,但在患者的血浆中却能检测到胆绿素,在病情不是很严重的CKDI~III期患者中也有发现,且随着病情的加重,其水平增加,临床上可以考虑将胆绿素作为临床早期诊断CKD的参考指标。胆红素是人体胆汁中的主要色素,它是体内原卟啉IX的主要代谢产物。本研究结果表明,胆红素水平在CKD组中明显高于健康对照组。胆红素具有毒性,能对大脑和神经系统引起不可逆的损伤。

**3.2 鞘脂类代谢途径与水肿** 在上述通过代谢组学发现的差异化合物中,鞘氨醇、鞘氨醇-1-磷酸、二氢鞘氨醇的代谢与鞘脂类代谢途径有关。神经酰胺的上游物质二氢鞘氨醇对细胞内皮有保护作用,代谢产物鞘氨醇为细胞膜组成成分。本研究中CKD各期患者体内二氢鞘氨醇水平均高于健康对照组,代谢产物鞘氨醇水平均低于健康对照组,进一步代谢产物鞘氨醇-1-磷酸水平均高于健康对照组。鞘氨醇为细胞膜组成成分之一,CKD患者的肾小球基底膜受损是因为鞘氨醇水平减少,细胞膜的功能减弱,物质交换能力降低,从而使肾功能受到影响。上游物质二氢鞘氨醇与其水平变化趋势相反,可能是通过其他代谢途径生成其他代谢产物所致。鞘氨醇一方面可代谢为鞘氨醇-1-磷酸,另一方面可代谢为硫酸半乳糖-N-酰基鞘氨醇。硫酸半乳糖-N-酰基鞘氨醇可以保护Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP酶,维持细胞内外稳定,避免发生水肿,但检测到CKD患者血浆鞘氨醇-1-磷酸水平均升高,间接反映硫酸半乳糖-N-酰基鞘氨醇水平的降低,可能与CKD患者水肿的发生有关。

另外,在上述通过代谢组学发现的差异化合物中,哇巴因在CKD患者血浆中水平明显增高。内源性哇巴因是一种类固醇类的肾上腺皮质激素,哇巴因抑制细胞膜上的Na<sup>+</sup>泵,扰乱细胞膜保Na<sup>+</sup>排K<sup>+</sup>的平衡,使细胞膜内水增多,导致水肿<sup>[6-7]</sup>。抑制Na<sup>+</sup>泵的同时导致细胞内Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>升高,动脉壁平滑肌收缩,肾上腺受体密度升高,血管反应性增强,动脉血压升高,最终导致高血压。肾脏受累表现出的高血压和50%患者出现水肿都与此有关。

**3.3 类固醇类代谢途径** 在上述通过代谢组学发现的差异化合物中,乙酰辅酶A、雄酮、醛固酮、癸酸睾酮等的代谢与类固醇类代谢途径有关。乙酰辅酶A可转化成β-羟-β-甲戊二酸单酰辅酶A(HMG-CoA),其在HMG-CoA还原酶的作用下可生成甲羟戊酸,甲羟戊酸一方面可代谢为泛醌,泛醌是一类具有维生素作用的物质,是呼吸链中的递氢体,检测到的差异化合物辅酶Q2即为泛醌中的一类,CKD各期患者中乙酰辅酶A、泛醌变化趋势一致,均下调。甲羟戊酸另一方面可转化成原角鲨烯二磷酸,进一步转化成胆固醇。人体的肾上腺皮质和性腺所释放的皮质醇、醛固酮、雌二醇、睾酮以及维生素D等各种激素,都属于类固醇激素,它的前体物质就是胆固醇<sup>[8]</sup>。类固醇激素是肾上腺皮质激素的一种,当肾上腺皮质激素分泌失常时,将引起糖代谢及无机盐代谢紊乱而出现病症。

胆固醇是组成细胞膜的基本成分,产生的醛固酮主要用于肾脏的Na<sup>+</sup>循环和水分重吸收,来维持血压稳定,刺激集合管的内皮细胞,进行H<sup>+</sup>分泌,以调节血浆中HCO<sub>3</sub>S水平及酸碱平衡。当醛固酮分泌过量时,肾的再吸收将增强;分泌不足时,肾的再吸收将减弱<sup>[9]</sup>。本研究中CKD各期患者血浆中醛固酮水平均

低于健康对照者,反映了肾再吸收功能减弱。

胆固醇的另一条代谢支路上,睾酮有着维持骨密度、肌肉强度、细胞钙平衡,影响脂代谢、糖代谢的作用。睾酮转化的双氢睾酮可增加免疫系统功能,与心血管疾病、动脉粥样硬化及高血压有关。本研究中 CKD 患者血浆中睾酮及其代谢产物雄酮、雌激素类产物雌三烯水平均降低,反映了肾病患者的代谢异常。另外,当肾功能受损使胆固醇下一级代谢产物维生素 D 合成困难,进而影响钙三醇的代谢。有研究表明,肾衰竭或慢性肾功能损伤时钙三醇生成减少,临床上表现为  $Ca^{2+}$  代谢紊乱,容易引发水肿<sup>[8]</sup>。

在上述通过代谢组学发现的差异化合物中,牛磺酸在 CKD 患者血浆中水平明显降低。牛磺酸在保持人体正常血压、保护心肌细胞、抗心律失常等方面都有显著的作用,可在肝脏中与胆汁酸结合形成牛磺胆酸,增加脂质和胆固醇的溶解性,影响脂类吸收,还可促进脂肪乳化,具有中枢调节血压的作用。本研究 CKD 各期患者血浆牛磺酸水平均下降,也侧面反映了 CKD 患者易患高血压、心脏病的原因。

此外,通过代谢组学发现的差异化合物(±)5-羟基二十碳四烯酸是花生四烯酸在脂氧化酶 LOX 作用下的代谢产物,随即转化为不稳定的中间产物白三烯 A<sub>4</sub>,据报道其与动脉粥样硬化的发生与发展有关<sup>[10]</sup>。CKD 各期患者血浆中(±)5-羟基二十碳四烯酸水平均高于健康对照者,可能与肾病患者易引发心血管疾病有关。

综上所述,本研究采用代谢组学方法,运用 HPLC-Q/TOF 高分辨质谱手段研究不同阶段肾病患者血浆中代谢产物的变化<sup>[11-15]</sup>,通过单变量与多变量数理统计分析方法,在血浆中鉴定了 27 个差异化合物,结合代谢通路分析,表明不同阶段肾病患者中胆红素循环、鞘脂类、类固醇类等物质代谢通路出现紊乱。该研究可增进对肾病发生、发展的了解,为寻找能够反映不同阶段肾病的特异性标志物,探讨疾病的发病机制及诊断治疗提供新的参考。

### 参考文献

[1] 田止学,王宝亮,张琳琪,等.加味真武汤治疗慢性肾病(Ⅲ~Ⅳ期)临床研究[J].中医学报,2017,32(9):1757-1760.

[2] KIM K, ARONOV P, ZAKHARKIN S O, et al. Urine metabolomics analysis for kidney cancer detection and biomarker discovery[J]. Mol Cell Proteomics, 2009, 8(3): 558-570.

[3] NKF-K/DOQI 工作组.慢性肾脏病及透析的临床实践指南[M].王海燕,王梅,译.北京:人民卫生出版社,2003: 1275.

[4] YANG Y I, WANG S, BAO Y R, et al. Anti-ulcer effect and potential mechanism of licoflavone by regulating inflammation mediators and amino acid metabolism[J]. J Ethnopharmacol, 2017, 199(1): 175-182.

[5] BAO Y R, WANG S, YANG X X, et al. Metabolomic study of the intervention effects of Shuihonghuazi Formula, a traditional chinese medicinal formulae, on hepatocellular carcinoma (HCC) rats using performance HPLC/ESI-TOF-MS[J]. J Ethnopharmacol, 2017, 198(1): 468-478.

[6] STAYROOK K R, BRAMLETT K S, SAVKUR R S, et al. Regulation of carbohydrate metabolism by the farnesoid X receptor[J]. Endocrinology, 2005, 146(3): 984-991.

[7] ZHANG Y Q, EDWARDS P A. FXR signaling in metabolic disease[J]. FEBS Lett, 2008, 582(1): 10-18.

[8] GLUNDE K, SERKOVA N J. Therapeutic targets and biomarkers identified in cancer choline phospholipid metabolism[J]. Pharmacogenomics, 2006, 7(7): 1109-1123.

[9] 庞炜,张栩,李丹,等.花生四烯酸代谢组学在动脉粥样硬化发生机制研究中的应用[J].中国医学前沿杂志,2012, 4(8): 23-27.

[10] 林海燕.氧化应激与糖尿病肾病关系的研究进展[J].医学综述,2013,19(21): 3949-3952.

[11] 任向楠,梁琼麟.基于质谱分析的代谢组学研究进展[J].分析测试学报,2017,36(2): 161-169.

[12] 任佳慧,彭艾.慢性肾脏病心血管损伤的临床代谢组学研究进展[J].上海医学,2016,39(11): 691-695.

[13] 卢嫣,苏哲苓,杨莉,等.肾系疾病肝肾阴虚证血液代谢组学初探[J].上海中医药杂志,2015,49(3): 10-13.

[14] 唐丹丹,袁圣钧,张男,等.基于尿样代谢组学的中药药效及毒性研究进展[J].药物分析杂志,2013,36(1): 1-8.

[15] 邱芳晖,张洪柱.刺血疗法治疗急性痛风性关节炎的效果及对血清代谢产物的影响[J].中国医药导报,2018, 15(12): 135-139.

(收稿日期:2018-05-12 修回日期:2018-10-26)