

类号: R563.3

密级: 一般

UDC: 616.2

学号: 2018217196



廣州醫科大學

硕士学位论文

炎症和能量代谢通路在慢阻肺进展中的机制探索及临床意义

研究生: 薛明汕

指导教师: 周露茜 教授

申请学位类别: 医学硕士

学位类型: 学术学位

学科专业: 内科学

研究方向: 慢阻肺

论文完成时间: 2021年3月

论文答辩日期: 2021年4月

二〇二一年四月

学位论文独创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。文中依法引用他人的成果、对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中做出明确标注或得到许可。论文内容未包含法律意义上已属于他人的任何形式的研究成果，也不包含本人已用于其他学位申请的论文或成果。

本人如违反上述声明，愿意承担以下责任和后果：

- 1.交回学校授予的学位证书；
- 2.学校可在相关媒体上对作者本人的行为进行通报；
- 3.本人按照学校规定的方式，对因不当取得学位给学校造成的名誉损害，进行公开道歉。
- 4.本人负责因论文成果不实产生的法律纠纷。

论文作者签名：_____ 日期：2021年4月24日

学位论文知识产权权属声明

本人在导师指导下所完成的论文及相关的职务作品，知识产权归属广州医科大学及附属单位。广州医科大学及附属单位享有以任何方式发表、复制、公开阅览、借阅以及申请专利等权利。本人离校后发表或使用学位论文或与该论文直接相关的学术论文或成果时，署名单位仍然为广州医科大学及附属单位。任何其他收存和保管本论文的单位和个人，未经本论文作者、导师授权，不得将本论文转借他人、复制、抄录或以其他任何方式传播，否则，引起有碍作者的著作权益问题，将会追究相应的法律责任。

论文作者签名：_____ 日期：2021年4月24日

导师签名：_____ 日期：2021年4月24日

学位论文使用授权声明

- 1、学校可以保留本论文的原件及复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库，可以采用影印、缩印或扫描等复印手段保存、汇编学位论文；
- 2、本人授权学校向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。

本学位论文属于（请在以下相应方框内打“√”）：

- 1、保密口，在___年___月解密后适用本授权书。
- 2、不保密口。

论文作者签名：_____ 日期：2021年4月24日

导师签名：_____ 日期：2021年4月24日



廣州醫科大學

硕士学位论文

炎症和能量代谢通路在慢阻肺进展中的机制探索及临床意义

Mechanism exploration and clinical significance of inflammation and energy metabolism pathways in the progression of chronic obstructive pulmonary disease

研究生：薛明汕

学号：2018217196

专业名称：内科学

指导教师：周露茜 教授

导师单位：广州医科大学附属第一医院

论文答辩委员会成员（签名）

刘世平 周露茜 洪海强
刘 郭

二〇二一年四月

目 录

缩略词表	I
中文摘要	1
ABSTRACT.....	5
前 言.....	9
第一部分：炎症相关多不饱和脂肪酸N-3&N-6与慢性营养能量消耗的关联性探索分析.....	11
1.研究目的.....	11
2.研究方法.....	11
3.研究结果.....	13
4.讨论.....	18
5.结论.....	20
第二部分：慢性阻塞性肺疾病患者能量代谢通路的综合性分析	21
1.研究目标.....	21
2.研究方法.....	21
3.研究结果.....	22
4.讨论.....	30
5.结论.....	33
总体结论:.....	34
参考文献	36
文献综述	42
个人简介	51
发表论文	52
会议投稿	54
致 谢.....	56

缩略词表

英文缩写	英文全称	中文全称
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease	慢性阻塞性肺疾病
GOLD	the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease	慢阻肺全球倡议
BMI	Body Mass Index	体重指数
IBW	Ideal Body Weight	理想体重
PUFAs	Polyunsaturated Fatty Acid	多不饱和脂肪酸
N-3	Omega-3	欧米伽-3 类脂肪酸
ALA	Alpha-Linoleic Acid	α -亚油酸
SDA	Stearidonic Acid	亚麻油酸
ETA	Eicosatetraenoic Acid	二十碳四烯酸
EPA	Eicosapentaenoic Acid	二十碳五烯酸
DHA	Docosapentaenoic Acid	二十二碳六烯酸
N-6	Omega-6	欧米伽-6 类脂肪酸
LA	Linoleic Acid	亚油酸
GLA	Gamma-Linoleic Acid	γ -亚油酸
DGLA	Dihomo Gamma-Linoleic Acid	γ -亚麻酸
ARA	Arachidonic Acid	花生四烯酸
DTA	Docosatetraenoic Acid	二十二碳四烯酸
THA	Tetracosahexaenoic Acid	二十四碳六烯酸
DPA	Docosapentaenoic Acid	二十二碳五烯酸
HPETE	Hydroperoxyeicosatetraenoic Acid	羟过氧化二十碳四烯酸
HETE	Hydroxyeicosatetraenoic Acid	羟基二十碳四烯酸
COX	Cyclooxygenase	环氧合酶
LOX	Lipoxygenase	脂氧合酶
P450	Cytochrome P450	细胞色素 P450
WBC	White Blood Cell	白细胞
NEUT	Neutrophil Count	中性粒细胞计数
TLC	Lymphocyte Count	淋巴细胞计数
Eos	Eosinophil Count	嗜酸性粒细胞计数
CRP	C-Reactive Protein	C 反应蛋白

PCT	Procalcitonin	降钙素原
CEA	Carcinoembryonic Antigen	癌胚抗原
Glu	Glucose	葡萄糖
TCH	Total Cholesterol	总胆固醇
FEV1	Forced Expiratory Volume in 1 Second	1 秒用力肺活量
FVC	Forced Vital Capacity	用力肺活量
MEF	Maximal Expiratory Flow	最大呼气流量
FENO	Fractional Exhaled Nitric Oxide	呼出气一氧化氮
CAT	COPD Assessment Test	慢阻肺评估测试
TCA	Tricarboxylic Acid Cycle	三羧酸循环
TX	Thromboxane	血栓素
PG	Prostaglandin	前列腺素
IL	Interleukin	白介素
LT	Leukotrienes	白三烯
ATP	Adenosine Triphosphate	三磷酸腺苷
ROS	Reactive Oxygen Species	活性氧
UHPLC-Q- TOF/MS	Ultra High Performance Liquid Phase Series Quadrupole Flight-Time Secondary Mass Spectrometry	超高性能液相系列四极杆 飞行时间二次质谱

炎症和能量代谢通路在慢阻肺进展中的机制探索及 临床意义

学科专业：内科学 慢性阻塞性肺疾病

研 究 生：薛明汕

导 师：周露茜 教授

中文摘要

第一部分：炎症相关多不饱和脂肪酸N-3&N-6与慢性营养能量消耗 的关联性探索

背景：

重度慢性阻塞性肺疾病(简称慢阻肺，COPD)是以进行性肺功能下降伴不同程度的营养不良为主要特征的慢性气道炎症性疾病。

目的：

采用代谢组学分析技术系统性评价慢阻肺患者血清中炎症相关多不饱和脂肪酸(PUFAs)且最具代表性的N-3和N-6通路，同时结合患者营养状况与肺功能水平，以明确此种炎症代谢通路分析方法对于评价患者营养及炎症状态的桥梁性作用。

材料与方法：

纳入稳定期慢阻肺患者82名。收集患者一般信息、体重指数(BMI)、标准体重比率 (IBW%)，同时收集患者肺功能、血常规、炎症因子等指标。共随访三个时间点：初次就诊时间（基线）、24周和52周。另纳入年龄和性别均匹配的健康人29名，收集基本信息。采集到的所有受试者的空腹血样均采用代谢组技术检测N-3和N-6类（包含N-6下游-类二十烷酸）两条通路，共计20种代谢物。

结果：

根据三个时间点的动态随访观察发现反应患者营养水平的BMI及IBW%呈下降趋势。相关性分析显示BMI与FEV₁%预测值和FEV₁/FVC显著相关（ P 均 < 0.05 ）。N-3和N-6的总体水平上升，其中亚油酸（LA）、 γ -亚油酸（GLA）、

花生四烯酸（ARA）三种最具代表性的N-6类代谢物水平和二十碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA）两种代表性N-3类代谢物与BMI显著相关（ P 均 <0.05 ），并与肺功能指标FEV₁%及FEV₁/FVC等呈显著相关（ P 均 <0.05 ）。此外，在三个时间点的纵向随访中发现N-3类和N-6类代谢物呈现出同步上升趋势。

结论:

在第一部分的研究中，我们应用炎症相关代谢物与患者的营养水平和通气功能做对比分析，结果证明三者具有互相关性。这不仅从代谢的角度证明了慢阻肺患者的营养不良状态和能量障碍呈进行性加重，还证明了具有类拮抗关系的N-3和N-6这两条通路随着病情进展同步性升高，而非理论上认为的此消彼长的趋势，这可能与稳定期慢阻肺患者的促炎和抗炎稳态调节机制的激活有关。此外还证明了代谢组学分析方法可从整体或局部两个层面来评估慢阻肺的炎症-通气-营养机制随时间进展的变化。

关键词:

慢性阻塞性肺疾病，代谢组学，N-3&N-6，促炎抗炎平衡。

第二部分：慢性阻塞性肺病患者能量代谢通路的综合性分析

背景和目的:

慢阻肺患者长期处于缺氧和炎症环境，加之低营养摄入和呼吸运动受限后的高耗能状态，部分患者尤其是重症群体营养状态较差。在研究的第一部分证实了N-3和N-6类炎症代谢通路于低营养状态的稳定期慢阻肺患者中具有重要的评估价值，可能会导致低水平且倾向于无氧的能量循环，本部分将进一步分析能量失衡状态，从无氧和有氧两条能量代谢途径角度分析，综合比对慢阻肺的不同阶段的能量代谢失衡情况。

方法:

另纳入140名慢阻肺患者，应用代谢组学分析法检测能量代谢产物，根据产能需氧条件分为有氧（三羧酸循环）和无氧（丙酮酸-乳酸）两条途径。研究中采用GOLD分级、急性加重期-稳定期、稳定期阶段对比（临床稳定期-4周稳定期）、年龄段以及吸烟指数等多种对比方法，另结合肺功能及CAT评分，综合性探索能量代谢于慢阻肺机制中的确切意义。代谢物含量采用峰值面积比对法，

代谢物间对比采用标准化分析法。

结果:

慢阻肺患者较健康人能量代谢更倾向于无氧途径，且随着疾病进展加重 GOLD 等级升高，无氧水平逐渐上升。从能量变化趋势上看，慢阻肺患者与健康人的有氧循环呈反向。急性加重期阶段可见患者有氧代谢水平显著升高并超过无氧途径，但无氧能量水平较稳定期更为亢进。此外，无氧能量代谢也与吸烟、肺通气功能和 CAT 评分显著相关。不同年龄段慢阻肺患者的代谢水平未见明显差异。

结论:

通过综合性评价，我们发现慢阻肺患者在静息状态下存在显著的有氧-无氧能量代谢失衡，在疾病的进展过程中有着高倾向性无氧供能机制，但是在疾病加重阶段由于应激状态使得机体有氧代谢更为显著，无氧途径也会同步上升但稍低于有氧。能量代谢与患者肺通气和运动功能受限机制紧密相关。尽管年龄差异会影响供能水平但是研究中从 TAC 循环和无氧循环机制中并未发现这一趋势，我们认为这是由于通气功能受限对机体的影响要显著高于年龄因素，导致数据上年龄因素被病理性因素影响。慢阻肺患者的吸烟指数与病情进展程度表现出正相关趋势，烟雾中的 CO 等有害成分和激活的氧化应激机制损伤了呼吸膜影响机体肺换气功能同样造成了无氧途径的亢进。

关键词:

慢性阻塞性肺疾病；代谢组学；能量代谢；无氧/有氧代谢；三羧酸循环。

总体结论:

具有类拮抗作用的炎症相关代谢通路 N-3 和 N-6 整体水平在促炎和抗炎机制下同步上升，不仅可以反应稳定期慢阻肺患者的炎症水平，还与患者的肺通气功能和营养能量代谢障碍有明确的关联，从代谢角度证明了炎症进展过程中也会伴有营养能量的代谢障碍，在此基础上观察无氧和有氧两条通路，GOLD 级别越高患者的无氧代谢水平更高。对于稳定期(临床稳定期和 4 周稳定期)慢阻肺患者更倾向于无氧能量途径，但急性加重期的患者两条能量途径同时亢进且在急性期内有氧高于无氧。通过综合性评价，我们进一步拓展了高倾向性无氧低

效供能途径在肺组织损伤中意义，将慢阻肺患者能量-炎症-肺通气功能和运动受限机制联系了起来。

Mechanism exploration and clinical significance of inflammation and energy metabolism pathways in the progression of chronic obstructive pulmonary disease

Major: Internal Medicine--COPD

Name of Candidate: Mingshan Xue

Name of Supervisor: Luqian Zhou

Abstract

Part I: Exploratory analysis of the association between inflammation-related polyunsaturated fatty acids N-3&N-6 and chronic nutritional energy expenditure

Background:

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a chronic airway inflammatory disease characterized by progressive lung function decline and malnutrition.

Objective:

Metabolomics was used to systematically evaluate the main inflammation-related and most representative N-3 and N-6 metabolic pathways of serum polyunsaturated fatty acids (PUFA) in patients with COPD, and to clarify the bridge effect of this inflammatory metabolic pathway analysis method on the evaluation of nutrition and inflammation in patients in combination with patients' nutritional status and lung function level.

Materials and methods:

A total of 82 patients with stable COPD were included. General information, body mass index (BMI) and standard body weight ratio (IBW%) were collected. Clinical information including pulmonary function, blood routine and inflammatory factors were also collected. Three time points were followed: time at first visit (baseline), 24 weeks, and 52 weeks. A total of 29 healthy people with matched age and gender were included to collect basic information. Fasting blood samples of all subjects were collected for the detection of N-3 and N-6 pathways (including N-6

downstream eicosanoic acids) by metabonomics technique, with a total of 20 metabolites.

Results:

According to the dynamic follow-up observation at three time points, the BMI and IBW% of the patients reflecting the nutritional level showed a decreasing trend. Correlation analysis showed that BMI was correlated with FEV₁% predictive value and FEV₁/FVC significantly ($P < 0.05$). The overall level of N-3 and N-6 increased, and the levels of linoleic acid (LA), γ -linoleic acid (GLA) and arachidonic acid (ARA), the three most representative N-6 metabolites, and the two representative N-3 metabolites eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), were significantly correlated with BMI ($P < 0.05$), and was closely associated with FEV₁% and FEV₁/FVC pulmonary function results with diagnostic significance for COPD ($P < 0.05$). In addition, these metabolites showed an upward trend during longitudinal follow-up at three time points.

Conclusion:

At first we used inflammation-related metabolites to make a comparative analysis of patients' nutritional levels and ventilation function, and the results showed that the three were mutually correlated. From the perspective of metabolism, this proves that the state of malnutrition and energy disorders in COPD patients become progressively worse. It also proves that N-3 and N-6, two pathways with quasi-antagonism relationship, increase synchronously with the progression of COPD patients, rather than the trend of a gradual decrease as theoretically believed. This may be related to the activation of pro-inflammatory and anti-inflammatory homeostasis regulation mechanisms in stable COPD patients. In addition, it has been demonstrated that metabonomics analysis can be used to evaluate the inflammation in-ventilation-nutritional mechanisms of COPD at both the global and local levels over time.

Part II: Comprehensive analysis of energy metabolism pathways in patients with chronic obstructive pulmonary disease

Background and Objective:

COPD patients are in a long-term hypoxia and inflammatory environment, coupled with low nutrition intake and high energy consumption after respiratory movement restriction, some patients, especially severe ones, have poor nutritional

status. In the first part of the study, it was confirmed that the N-3 and N-6 inflammatory metabolic pathways have important evaluation value in stable COPD patients with low nutritional energy level. This part will further analyze the state of energy imbalance from the perspective of anaerobic and aerobic energy metabolism pathways, and comprehensively compare the energy metabolism imbalance at different stages of COPD.

Methods:

Another 140 COPD patients were included, and energy metabolites were detected by metabolomic analysis. According to productivity and aerobic conditions, they were divided into two pathways: aerobic (tricarboxylic acid cycle) and anaerobic (pyruvate-lactic acid). In this study, the GOLD grade, acute exacerbation-stable phase, stable phase comparison (clinical stable phase to 4-week stable phase), age, and smoking index were used to comprehensively explore the significance of energy metabolism in the mechanism of COPD in combination with lung function and CAT score. The relative peak area comparison method was used for metabolite content, and the standardized analysis method was used for metabolite comparison.

Results:

Patients with COPD tend to have anaerobic energy metabolism more than healthy people, and the anaerobic level gradually increases with the progression of the disease as the Gold grade increases. From the perspective of energy change, the aerobic circulation of COPD patients and healthy people showed a reversed trend. In the acute exacerbation phase, the level of aerobic metabolism increased significantly and exceeded that of the anaerobic pathway, but the level of anaerobic energy was more hyperactive than that of the stable phase. In addition, anaerobic energy metabolism was also significantly associated with smoking, pulmonary ventilation function, and CAT score. No differences in metabolic levels were found among COPD patients.

Conclusion:

Through comprehensive evaluation, we found that COPD patients had significant aerobic - anaerobic energy metabolism imbalance in the resting state, and had a high tendency of anaerobic energy supply mechanism in the progression of the disease. However, in the aggravation stage of the disease, due to the stress state, the aerobic metabolism is more intense, and the anaerobic pathway will also rise synchronously but slightly lower than the aerobic pathway. Energy metabolism is closely related to

the mechanism of pulmonary ventilation and motor function limitation in patients. Although the age difference affects the energy supply level, this trend was not found in the TCA cycle and anaerobic cycle mechanism in the study. We believe that this is because the influence of ventilation function limitation on the body is significantly higher than that of age factor, leading to the influence of age factor on pathological factors in the data. In COPD patients, the more severe the patients are, the higher the smoking index is. The harmful components such as CO in smoke and the activated oxidative stress mechanism damage the ventilation function of the lung and also cause hyperactivity of the anaerobic pathway.

Key words:

Chronic obstructive pulmonary disease; metabolomics; Anaerobic/Aerobic metabolic cycle; TCA cycle; Lactic acid.

Overall conclusion:

The overall levels of N-3 and N-6, the quasi-antagonistic inflammation-related metabolic pathways, were simultaneously increased under the pro-inflammatory and anti-inflammatory mechanisms, which could not only reflect the inflammatory levels in patients with stable COPD, but also have a clear correlation with pulmonary ventilation function and nutrient and energy metabolism disorders in patients. It is proved from the metabolic point of view that the process of inflammation is accompanied by the metabolic disorder of nutrient energy. On this basis, the two pathways of anaerobic and aerobic were observed, and the higher the GOLD level, the higher the anaerobic metabolism level of patients. Patients with stable COPD (clinically stable and 4-week stable) preferred the anaerobic energy pathway, but patients with acute exacerbation were simultaneously hyperactive in both energy pathways and anoxic was higher than aerobic during the acute phase. Through comprehensive evaluation, we further expanded the significance of high-orientation anaerobic and low-efficiency energy supply pathway in lung injury, and linked the mechanism of energy-inflammation-lung ventilation function and motion restriction in COPD patients.

前言

慢性阻塞性肺疾病（Chronic obstructive pulmonary disease, COPD）简称慢阻肺，是一种以不完全可逆性气道阻塞和炎症为主要特征的高度异质性的慢性呼吸系统疾病，通常与吸烟、粉尘暴露和环境污染等有关，在脱离诱发因素后病情仍持续存在，经感染等诱发可出现急性加重⁽¹³⁾。同时，对于重度慢阻肺患者来说，还可能伴有心血管疾病和骨骼肌萎缩，处于慢性炎症环境中的机体代谢内环境稳态出现显著异常^(54, 66)。在疾病后期，气道重塑加之分泌物阻塞导致患者呼吸困难进行性加重，气促更明显⁽⁴⁰⁾。为维持通气水平，患者呼吸运动的能量需求更高致呼吸肌更为疲劳，让长期营养不良的机体雪上加霜⁽⁴⁰⁾。因此“炎症-肺通气-营养-能量”为慢阻肺患者病情进展的核心机制。

炎症相关多不饱和脂肪酸（Polyunsaturated fatty acid, PUFAs）N-3和N-6是维持人体正常生理功能所必需的重要代谢物⁽¹⁹⁾。N-3 类代谢物具有抗炎活性而N-6具有促炎活性，前者可减弱后者的促炎效应，因此有饮食相关研究认为使用N-3类食物是有益处的。N-6参与多种生理和病理过程,作为凝血酶、白三烯和前列腺素的直接前体，调控炎症的持续性状态。但是由于机体自稳态调节机制的存在，干预性增加N-3或N-6的摄入量并不显著影响下游代谢物或炎症物质的释放水平^(32, 36, 42)。

三羧酸循环（Tricarboxylic acid cycle, TCA）作为脂类和蛋白质通路的枢纽在机体代谢系统中发挥核心作用，主要位于线粒体内通过有氧条件，将糖类彻底氧化而不会造成丙酮酸堆积⁽²⁵⁾。丙酮酸是 TCA 循环产生能量的主要燃料，但是在氧供应不足条件下，丙酮酸会通过无氧酵解途径不可逆的转化为乳酸，进行低效产能⁽³⁰⁾。这一过程在正常机体中主要位于缺乏线粒体的红细胞和紧张工作时期的骨骼肌中⁽²⁵⁾。而在病理环境下，如糖尿病、肿瘤和丙酮酸激酶同工酶缺失的患者，整体的能量代谢稳态都会受到显著影响^(4, 25, 46, 55)。乳酸的形成可限制 TCA 循环产能效率，尤其是对于慢阻肺患者来说，线粒体的含量下降，同时丙酮酸转运蛋白降低，更加无法满足细胞内有效的三磷酸腺苷（Adenosine triphosphate, ATP）供应^(31, 65)。尽管乳酸在肝脏内的糖异生可能会成为机体能量储备，但缺氧环境下的机体还是无法对其进行高效产能利用^(46, 64)。需要注意的是，产能效率下降不代表所有部位 ATP 水平下降，有研究发现组织间隙和肺泡

灌洗液内 ATP 含量显著上升，加速诱导中性粒细胞外游运动，同时引发巨噬细胞分泌大量炎症因子⁽⁴⁷⁾。在长期烟雾影响下，机体线粒体的自噬降解和裂变分离失衡，ATP 产量减少同时活性氧（Reactive oxygen species, ROS）水平上升，加速细胞组织衰老和死亡，与此同时，高龄也是这一机制进展的重要因素⁽²⁸⁾。因此，我们推测慢阻肺患者可能更倾向于能量代谢的部位不均衡表达。

由于长期能量有效利用下降和摄入减少，处于慢性炎症环境下的慢阻肺患者多表现出低营养状态，尤其以骨骼肌萎缩为主要表现，重症患者这一表型会更明显^(9, 33, 39)。呼吸肌是骨骼肌中较为特殊的肌群，是肺通气量的重要保障，会受到慢性炎症、缺氧和蛋白质缺乏的影响，此外，慢阻肺患者肺过度通气（运动范围减小）和进行性呼吸困难加剧了呼吸肌群的负担。如果患者处于急性加重期还可能出现功能性肌无力⁽³⁹⁾。

代谢组学处于分子生物学的下游，可通过动态观察小分子改变来分析机体病理生理机制的改变，是检测能量代谢循环最好的手段⁽²⁹⁾。在此之前，我们通过代谢组学检测脂类代谢物对慢阻肺患者的慢性炎症水平进行评估，已初步证明其与患者机体炎症水平及营养水平的相关性^(7, 70)。因此本研究将在此基础上，从能量代谢角度进一步探索慢阻肺患者的疾病进展机制。

第一部分：炎症相关多不饱和脂肪酸N-3&N-6与慢性营养能量消耗的关联性探索分析

1.研究目的

首次应用代谢组学检测方法对慢阻肺患者的炎症相关的N-3和N-6类多不饱和脂肪酸进行分析，初步比对营养水平，从纵向角度动态分析二者与进行性下降的肺通气功能的相关性。

2.研究方法

2.1 受试者筛选

研究中纳入慢阻肺患者共82名，诊断标准符合2020年慢性阻塞性肺疾病全球倡议GOLD标准。所有患者均处于稳定期，稳定期标准参考了Marcoetal 2019⁽¹⁷⁾和GOLD 2020⁽¹⁵⁾，即于样本采集时间点的前后4周内无急性加重入院记录，患者的咳嗽、咳痰和气促症状无显著加重，临床症状不影响可承受范围内的正常活动。同时，在采集时间点4周前后无应用大剂量短期缓解类药物（如短效茶碱类、短效支气管扩张剂等），患者肺通气功能指标FEV₁和FEV₁/FVC等，包括FeNO无短期内显著性下降。

同期纳入29名年龄与性别均匹配的无肺部疾病的健康人。

排除标准：1.合并严重的心脑血管、肝肾等重要脏器疾患；2.有风湿免疫、过敏等疾病；3.合并肿瘤、血液系统疾病等疾患；4.精神疾病患者，病人和或家属不配合者。

收集所有受试者一般资料、血常规、炎症因子及肺功能等指标。慢阻肺患者纵向随访三个时间点基线时间（初次就诊时间）、24周时间点和52周时间点，每个时间点均收集上述结果信息。获得了所有受试者知情同意，本研究经过广州医科大学附属第一医院伦理委员会审批同意，伦理号：NCT04042519。

2.2 样本收集及保存

每位受试者在静息状态下，于晨间采集空腹静脉血，离心（应用赛默飞 ST 16R冷冻离心机，美国）设置3500rpm，3-5min，常温分离血清，吸取50微升进

入检测系统，剩余血清于-80℃低温保存待后续检测。

2.3 代谢组学检测技术

2.3.1 样本预处理

采用预冷甲醇（色谱纯级99.9%）作为萃取剂，对样本进行3次萃取，并加入PGD₂-d₄和HETE-d₈两种内标（内标含有H，d₄为4个氢离子被同位素替代，d₈为8个氢离子被同位素替代）。为了避免代谢物降解，操作全程在冰面上进行，离心时也需要将离心机设置为-4℃（应用赛默飞ST 16R冷冻离心机，美国；设置：13500rpm，15min，-4℃）。

2.3.2 样本衍生化

行衍生化处理（按照顺序加入HOBt 5微升，DIAAA 5微升，HATU 5微升，最后应用乙腈定容至50微升），需要注意的是样本加入需要严格按照上述顺序，通过最终混合溶液为淡黄色以证明顺序正确，如为非淡黄色可能出现加样顺序错误，最终吸取45微升（避免吸入沉淀物）至内插管中封盖。

2.3.3 超高效液相四极杆飞行时间二级质谱检测(UHPLC-Q-TOF/MS)

液相色谱采用Agilent 1290 Infinity LC system（UHPLC, Santa Clara, CA），应用安捷伦Eclipse XBD-C18柱（2.1×100 mm, 1.8 mol / l）进行组分分离。流动相A和流动相B分别为水（含0.1%甲酸）和乙腈（含0.1%甲酸），梯度设置为：0-1min, 15-23%B；1-8min, 23-33%B；8-8.5min, 33-35%B；8.5-15.5min, 35-47%B；15.5-16min, 47-50%B；16-23min, 50-85%B；23-25min, 85-95%B；25-28.9min, 95%B。

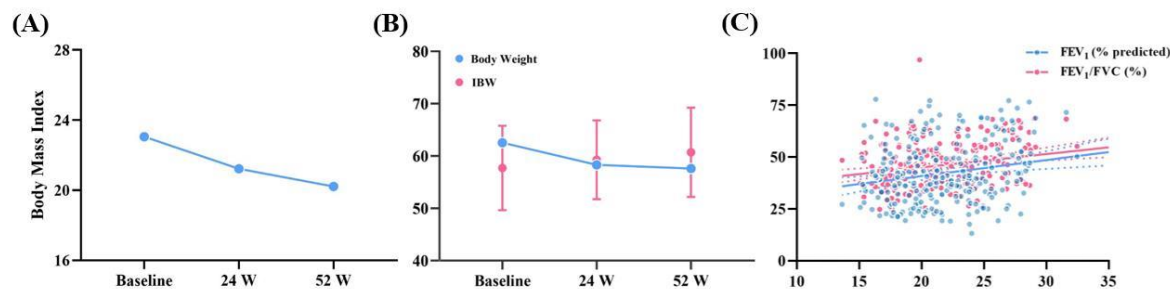
质谱采用Agilent 6550 UHD accurate-mass Q-TOF/MS 分析系统(UHPLC, Santa Clara, CA)。参数设置：干气体温度250℃，干气体流量15L/min，鞘流气体温度300℃，鞘流气体流量11L/min，喷雾器压力20 psig，毛细管电压5000V，喷嘴电压500V。

2.3.4 色谱解谱分析

研究中采用靶向定位法，根据已知代谢物M/Z值，先行检测代谢物标准品以确认保留时间，后检测样本对照保留时间确认目标峰。解谱分析软件采用Qualitative Analysis of MassHunter Acquisition B 05.00（UHPLC, 圣塔克塔, 美

表1 受试者基本信息

	健康对照组	COPD 组			<i>P</i> 值
		基线时间	24 周	52 周	
N	29	82	82	82	
年龄	60±9.83	66±10.59	66±10.59	67±10.59	0.659
男/女	26/3	76/6	76/6	76/6	0.988
BMI	24.91±3.10	26.33±5.29	23.32±4.77	22.34±3.61	0.669
IBW%	100.7±16.38	108.9±19.28	99.78±17.44	96.33±15.81	0.001
WBC, 10 ⁹ /L	6.24±5.57	6.08±4.31	7.49±3.59	7.82±6.85	0.038
NEUT , 10 ⁹ /L	5.13±1.22	5.29±3.16	5.85±2.94	5.41±3.15	0.110
TLC , 10 ⁹ /L	1.37±1.61	1.35±0.60	1.27±0.67	1.36±0.73	0.644
Eos , 10 ⁹ /L	0.19±0.31	0.14±0.12	0.16±0.27	0.12±0.16	0.121
CRP (μg/L)	0.12±1.61	0.39±0.14	0.26±0.31	0.42±0.17	0.492
PCT (ng/mL)	0.20±1.46	0.21±0.75	0.31±1.10	0.27±1.07	0.342
CEA (ng/mL)	4.43±4.78	3.80±2.90	4.75±6.36	3.20±2.26	0.285
Glu (mmol/L)	6.12±5.56	6.15±2.29	6.35±3.26	6.21±1.82	0.561
TCH (mmol/L)	3.71±5.54	3.92±1.19	4.27±1.01	3.97±0.89	0.077
FEV ₁ (pred%)	91.68±4.50	58.10±12.86	34.10±9.07	23.85±7.84	0.001
FVC (pred%)	90.33±4.63	69.45±15.89	71.15±14.11	72.00±16.96	0.832
FEV ₁ /FV C%	82.52±8.71	56.01±6.97	43.22±4.12	36.19±5.89	0.001



3.2 慢阻肺患者营养状态及与肺通气功能的相关性

图1 A和B为慢阻肺患者的BMI和IBW%水平于基线时间-24周-52周的变化趋势

C为慢阻肺患者的BMI与FEV₁pred%和FEV₁/FVC的相关性分析

BMI和IBW%随时间进展而下降，BMI与FEV₁pred%和FEV₁/FVC显著相关（采用Spearman相关性分析法， $r=0.18$ 和 $r=0.23$, P 均 <0.01 ）（见图1）。

3.3 N-3、N-6及其下游类二十烷酸代谢物水平和通路分析

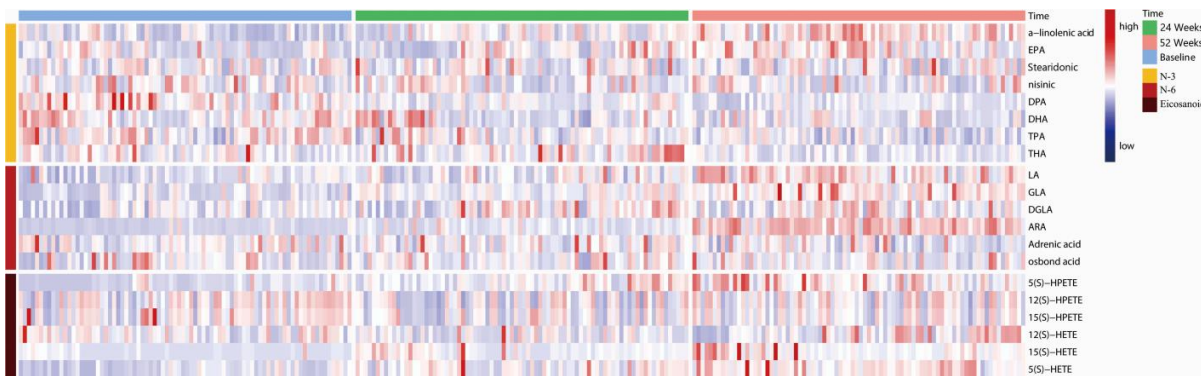


图2 N-3和N-6类及类二十烷酸代谢物在慢阻肺患者中不同进展阶段的水平，同时结合时间段（基线、24周和52周）以观察总体趋势变化。

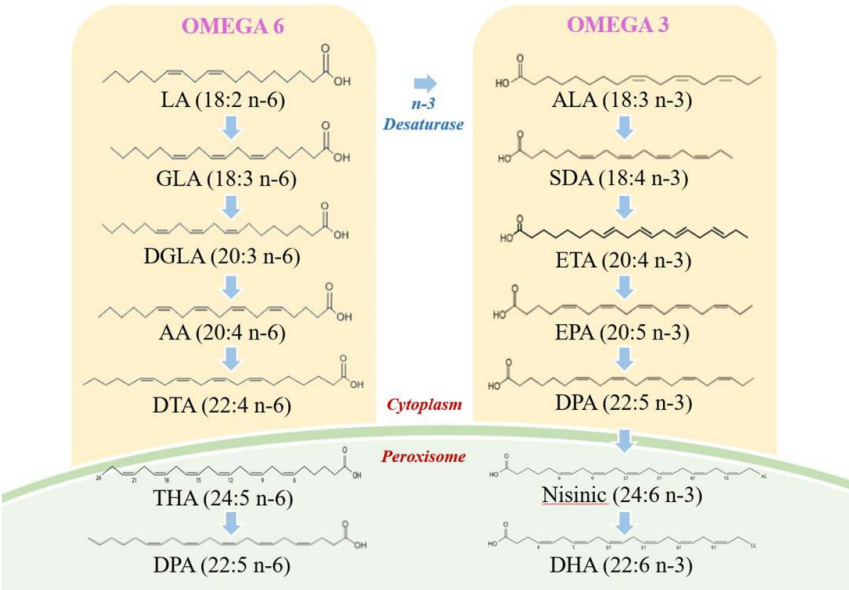


图3 慢阻肺患者N-3和N-6类炎症相关代谢通路及二者间的关联 AA/ARA：Arachidonic 花生四烯酸。

表2 慢阻肺患者N-3和N-6类及下游类二十烷酸代谢物的积分峰比值

代谢物 名称	总体积分 峰比值	峰比值纵向对比			F	P 值
		基线时间	24 周	52 周		
ALA	8.94±5.51	5.02±3.62	7.86±4.26	13.15±5.61	5.02	0.032
EPA	32.93±51.43	12.15±19.74	39.55±34.16	59.44±63.51	32.77	0.001
DHA	272.1±163.7	246.6±128.7	266.7±187.6	323.3±157.2	26.05	0.001
Stearidonic	46.96±33.40	49.86±28.93	45.15±36.85	47.00±34.69	0.19	0.082
Nisinic	23.21±18.68	17.77±12.46	25.95±19.10	27.77±20.53	41.47	0.001
DPA	9.03±5.22	7.35±3.45	8.68±4.43	11.05±6.059	32.53	0.015
TPA	63.33±36.70	76.33±39.97	62.76±36.22	49.85±28.39	12.54	0.136
THA	6.69±5.96	7.08±5.57	7.79±7.21	5.89±2.79	16.34	0.078
LA	2459±2324	1952±859.1	2426±1082	3348±3614	36.59	0.001
GLA	463.2±309.7	272.1±189.4	434.4±172.9	600.7±399.1	38.87	0.001
DGLA	1.25±0.96	1.02±0.60	1.262±1.03	1.49±1.02	6.97	0.023
ARA	122.2±240.4	26.91±73.21	122.2±113.7	509.9±205.3	240.07	0.001
Adrenic acid	79.18±70.26	67.60±33.46	79.49±56.67	99.69±93.98	32.3	0.001
Osbond acid	45.97±41.22	44.80±44.78	48.98±40.50	45.7±38.58	0.15	0.804
5s-HPETE	1.02±1.25	0.40±0.69	1.22±0.99	1.42±1.52	2.69	0.022
12s-HPETE	0.45±1.09	0.04±0.23	0.69±0.74	1.883±1.208	4.81	0.364
15s-HPETE	0.05±0.32	0.03±0.07	0.09±0.51	0.04±0.13	5.26	0.631
12s-HETE	2.87±6.28	1.31±2.85	3.08±5.61	5.45±8.04	3.27	0.024
15s-HETE	2.73±8.76	0.244±2.34	3.10±6.33	4.91±12.68	17.27	0.130
5s-HETE	22.42±17.43	11.88±9.35	25.02±15.45	30.01±19.53	37.16	0.001

表2给出了各时间点各代谢物的分析结果。图2显示了n-3和n-6代谢物的总体趋势;慢阻肺患者亚油酸（LA）、 γ -亚油酸（GLA）和 γ -亚麻酸（DGLA）的浓度在三个时间点上逐渐升高。以花生四烯酸（ARA）为直接底物的类二十烷酸代谢物5-氢过氧化物二十碳四烯酸（5-HPETE）、5-羟基二十碳四烯酸（5-HETE）和12-HETE的浓度在研究的三个随访时间点上也有所增加。随着时间的推移，N-3- α -亚油酸（ALA）和二十碳五烯酸（EPA）浓度呈上升趋势，而二十二碳五烯酸（DPA）、二十二碳六烯酸（DHA）、二十二碳五烯酸（TPA）和二十二碳六烯酸（THA）浓度呈下降趋势。图3为本研究检测到的代谢产物的通路图。健康对照组N-3、N-6水平低于慢阻肺患者。

3.4 慢阻肺患者N-3、N-6与慢阻肺患者肺通气功能和营养能量水平的相关性分析

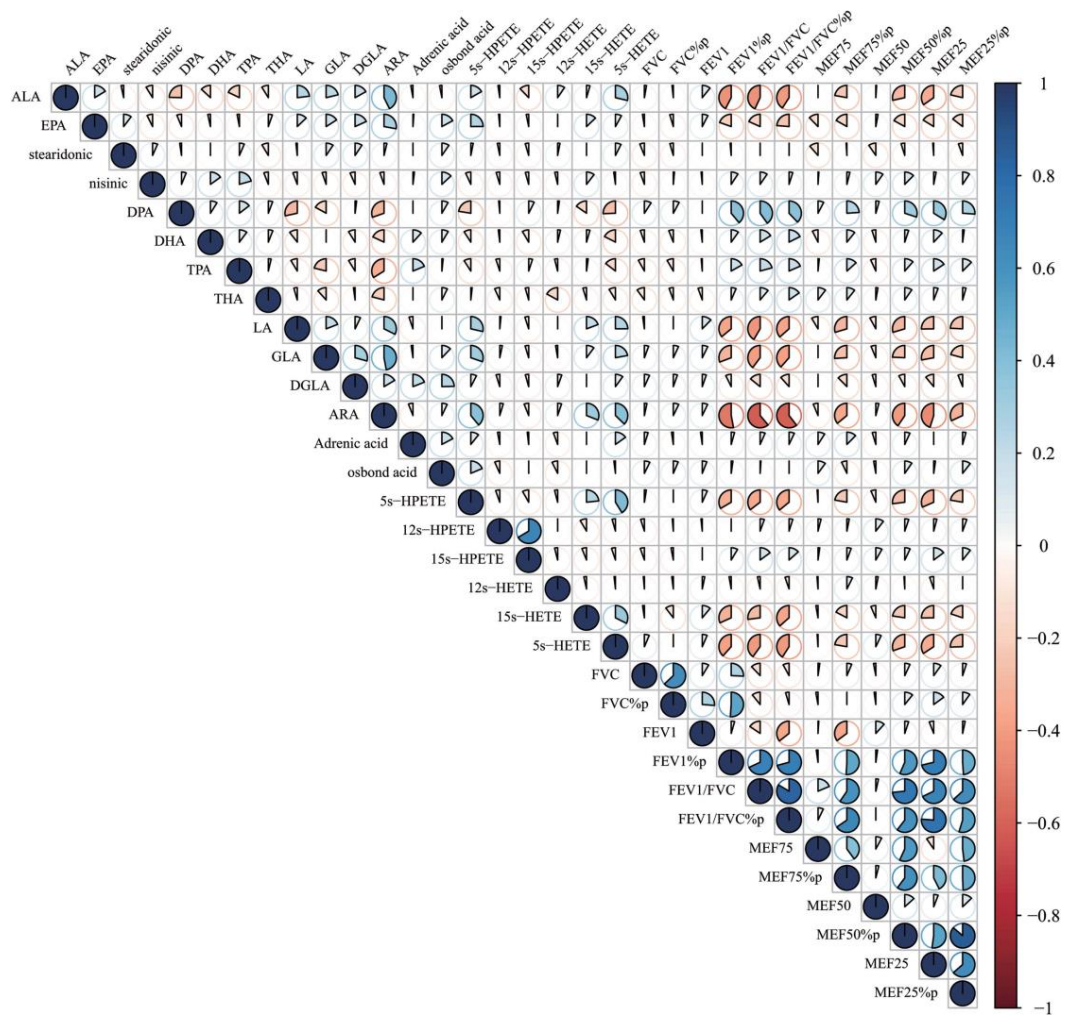


图4 N-3和N-6代谢产物与慢阻肺患者肺功能的相关性。

图4显示N-6代谢物LA、GLA、ARA与BMI呈显著相关(r 分别为-0.23、-0.58、-0.11, N-3代谢物的EPA、DHA也与BMI显著相关($r=-0.54$, -0.30 , P 均 <0.05)。所有代谢产物LA、GLA、ARA、EPA和DHA均与FEV1% ($r=-0.37$ 、 -0.35 、 -0.60 、 -0.47 、 -0.19 , P 均 <0.01)和FEV1/FVC ($r=-0.26$ 、 -0.13 、 -0.44 、 -0.28 、 -0.72)密切相关。

4.讨论

通过三个时间点纵向观察发现,慢阻肺患者的慢性炎症水平随着时间延长而逐渐升高,同时肺通气功能呈进行性下降,能量水平也在稳定期慢性病程的发展中而日渐消耗,多数重症患者呈低BMI的营养不良状态。从总体上看,N-3和N-6 PUFAs总含量同步上升,与肺通气功能、BMI和IBW%显著相关。因此,炎症相关代谢产物N-3和N-6类可作为评价慢阻肺病情严重程度的重要指标,另鉴于其兼具炎症和营养的特性,此两类通路可作为连接慢阻肺炎症-能量机制网络的桥梁。此外,研究中慢阻肺患者BMI和IBW%与FEV₁%和FEV₁/FVC的相关性也同时得到了证实。因此我们认为代谢组学评估方法可适用于炎症。

营养不良和长期呼吸负荷高能量消耗是慢阻肺患者持续疾病进展的因素之一⁽⁵²⁾。体重减轻是营养水平下降最直观的表现,其衍生出的BMI和IBW%是简单、准确判断患者营养状况的指标^(23, 27)。随着慢阻肺慢性炎症的进展(伴或不伴有诱发因素的持续存在),患者阻塞性肺通气障碍愈发严重,其伴随的呼吸做功日渐增加,焦虑和厌食等表现由呼吸困难导致的心理因素也会发生,免疫力的降低或失衡促使机体的炎症进展加速,从而导致营养摄入减少和肺通气功能进一步受损⁽⁵²⁾。因此,慢阻肺患者肺康复期间予以及时的营养支持对遏制这一恶性循环至关重要^(11, 51)。

N-3 PUFAs主要来源于牛肉、虾和深海鱼类,具有抑制炎症进展的功能,N-6 PUFAs主要存在于葵花籽、大豆油和肉类中,具促炎作用。Saini等人⁽⁵⁹⁾发现摄入过多N-6类食物可能会增加慢性疾病的风险,这可能会被摄入N-3 PUFAs的抗炎作用拮抗。由此可见,N-3和N-6作为必需脂肪酸,与机体促炎-抗炎平衡调节机制密切相关,尤其是在慢阻肺的慢性炎症失调的环境下,N-3 PUFAs因其抗炎特性可能会在一定程度上减缓慢性气道炎症进展过程^(37, 59)。许多营养学研究提出的N-3/N-6比值就是基于机体的炎症调节机制^(14, 63, 67)。这是首篇探索慢

阻肺患者稳定期炎症相关PUFAs与营养能量代谢相关的研究，尽管之前的研究中提到了N-3和N-6的拮抗（作用相反和相互抑制）关系，但我们发现研究中N-3和N-6并未呈现出预期的“此消彼长”趋势，而是总体性的同步升高。N-3在各种慢性炎症性肺部疾病中的抗炎活性已得到证实，并可抑制中性粒细胞聚集及减少中性粒细胞的局部数量。N-6 PUFAs是多种强效促炎介质（血栓素、白三烯和前列环素）的直接前体，可介导中性粒细胞聚集，局部炎症因子水平上升引起支气管和肺泡结构破坏致气道重构^(33, 57)。而N-3总体水平的上升可能为对抗N-6水平在慢性炎症环境下的进行性上升，可能为代偿性抗炎机制的激活，这种代偿性调节机制使得机体对N-3进行选择性地保留以维持N-3/N-6比值。但显然对于慢性慢阻肺患者，尤其在GOLD3-4级慢阻肺患者病情不完全可逆的逐步加重的进程中，N-3升高的代偿机制并不能完全维系抗炎-促炎平衡。研究中N-3的总含量较基线时间点升高但较同时期的N-6水平低也可说明这一点。

结合Calder⁽⁸⁾和Leuti⁽⁴³⁾等人对慢阻肺患者炎症失衡与通气功能的分析，我们认为N-3/N-6比值下降也意味着炎症水平向着促炎的倾向进展，炎症因子释放增加引起患者肺实质和间质出现一系列的病理改变（如纤毛运动功能障碍、黏液分泌增加、肺泡壁破坏等）致通气和换气功能均呈现不同程度障碍，表现为肺功能指标如FEV₁%和FEV₁/FVC进行性下降，在缺少或不规律的支扩和激素类药物干预的患者群体中，这一下降速度会更快，N-3与N-6的差距更大，患者可更快进展到不可逆的GOLD4级。

然而，从N-3或N-6类某一种代谢物趋势来看，并非全部呈上升趋势。研究中N-3类最具代表性的物质ALA和EPA的浓度逐步上升，作为此通路中的主要抗炎物质以拮抗N-6类代谢物的促炎活性，在Duvall等人⁽²⁰⁾的研究中也提到了这一点，但其他N-3类代谢物却呈下降趋势。这是可能由于体内稳态平衡机制和肠道菌群发挥了重要作用以避免某类通路中的代谢物过高以干扰整体性功能^(44, 60)。这里可能存在潜在的不同代谢物具有意义的趋势组合，目前很难去证实这一点，但不能将其简单的归因于个体差异因素，尽管这一因素是确实存在的。这是由于通路中仍然存在很多未确认的代谢物质，且其确切功能亦未充分发掘，每种代谢物间和通路间都存在着不同功能的酶类。因此彼此间的关联即趋势组合是不容忽视的，这也是代谢组学作为一门新技术应用至慢阻肺或其他呼吸系统疾病中迫切需要探明的问题。

N-6类PUFAs的关键代谢产物ARA和N-3类代谢产物EPA和DHA以及N-3和N-6类PUFAs的总含量分别与BMI和IBW%显著相关，同时也与FEV₁/FVC和FEV₁%显著相关。慢阻肺患者、尤其是中重度患者的营养水平和能量代谢水平在病情稳定期（非应激期）随着不完全可逆的病情进展而下降，从而出现呼吸肌无力致呼吸困难，下肢肌肉无力致六分钟步行实验距离缩短等表现⁽¹⁾。通过研究结果也证明了N-3和N-6不仅与炎症和肺功能通气有关还与患者的能量循环通路与营养状态有关。上文提到了炎症-肺功能-能量-营养网络是阐明慢阻肺患者病情进展机制的核心部分，而N-3与N-6作为与此机制关联密切的代谢通路可作为评估慢阻肺患者整体状态的重要靶点。随着医疗技术的发展，人们更加倾向于个体化医疗，而慢阻肺作为一种高度异质性疾病可能更加适合接受代谢组学这种对应不同个体及其机体稳态状态的评估方法，从而实时反映患者的代谢状态，并建立合理的氧气、营养和运动支持方案以改善机体的能量循环状态。目前，代谢组学的应用使得精准饮食疗法迅速发展并逐渐走向临床应用⁽⁶⁹⁾。在糖尿病、脂肪肝、肥胖、心血管疾病等多种慢性疾病的研究中，已经取得了初步成果^(49, 61)。因此应用代谢组学技术检测代谢趋势和通路，同时结合能量循环水平亢进程度，在评估稳定期慢阻肺患者的营养状态和生理状态方面也同样具有巨大的潜力，具体的能量循环分析将在本论文第二部分具体展开讨论。综上，我们认为，N-3和N-6 PUFAs通路可以作为参与慢阻肺进展的多种机制的桥梁。

5.结论

EPA (N-3)、DHA (N-3)、ARA (N-6)以及N-3、N-6 PUFAs总含量可以反映稳定期慢阻肺患者的肺通气状态，营养情况和炎症水平，与疾病进展程度密切相关。尽管N-3和N-6在炎症机制中具有相反的作用，但类拮抗关系的二者却呈现出同步上升的趋势，我们推测N-3的水平升高以对抗N-6的促炎活性，维持N-3/N-6的比值即抗炎-促炎平衡，但由于机体内环境稳态调节机制和肠道菌群调节等机制的存在，这种通路总体水平的升高可能并不会特别显著。在未来，代谢组学分析法可能会作为精准评估高异质性疾病——慢阻肺患者机体状态的新指标，为后续肺康复的营养支持和氧疗支持提供确切依据。

第二部分：慢性阻塞性肺疾病患者能量代谢通路的综合性分析

1.研究目标

第一部分我们通过代谢组学检测脂类代谢物对慢阻肺患者的慢性炎症水平进行评估，已初步证明其与患者机体炎症水平及营养水平的相关性。因此本部分将在此基础上，从能量循环角度探索无氧和有氧两条代谢途径于慢阻肺疾病进展中的机制及临床意义。将对比不同时期、不同严重程度、不同年龄段、不同吸烟水平等多种状态的慢阻肺患者的能量代谢水平。

2.研究方法

2.1受试者基本信息及纳入标准

根据2021最新GOLD指南⁽¹⁶⁾作为诊断标准，本部分纳入慢阻肺患者共140名（临床稳定期n=80，4周稳定期n=30）。

首先纳入慢阻肺临床稳定期(院内临床稳定期标准参考了Reis等人⁽⁵⁶⁾和Nguyen等人⁽⁵⁰⁾的研究方法：经治疗，患者于出院前无咳嗽程度加重，无痰量增加，无发热，无严重呼吸困难和胸腹矛盾运动，影像学提示肺内无显著新发斑片状渗出性病灶）患者共 80名（其中根据GOLD分级1-4级，每组各20名），所有患者年龄位于50-75岁之间，其中18名患者，收集到了同一次住院其所对应的急性加重的临床信息。

对于稳定期还有另外一项标准，Marco等人⁽¹⁷⁾的研究和GOLD 2021⁽³⁾部分内容提出：患者4周内无急性加重，患者症状咳嗽、咳痰和气促无显著加重，无发热等感染表现，临床症状不影响可承受范围内的正常活动，患者肺功能包括FeNO无短期内显著性下降，可认为其处于“稳定期”。目前针对“稳定期”的概念形成了两种不同的定义，一种针对于患者住院情况的评估，另一种则主要观察患者整体病程的状态。为了区分两种稳定期，本文将其命名为4周稳定期以对比上一段提到的临床稳定期。研究中纳入了4周稳定期慢阻肺患者共30名。

同时纳入性别、年龄均匹配的健康人20名。为比对不同年龄段慢阻肺患者的代谢物水平变化。为避免不同年龄段差异对代谢物的影响，我们另纳入30名

40-50岁的慢阻肺患者（GOLD 3-4级，将对比研究中50-75岁GOLD 3-4级的慢阻肺患者）。这里的40-50岁的慢阻肺患者人群仅进行年龄对比分析（本部分结果3.1 & 3.3.3），并不参与进其他部分结果分析。

全部受试者均处于静息状态（保持安静、放松的状态，如运动应休息30min再进行检测）下进行样本采集。本部分研究获得了所有受试者的知情同意，经过广州医科大学附属第一医院伦理委员会审批后开展，伦理号为 No.2017-92。

2.2 血清样本收集

每位受试者采集晨间空腹静脉血后离心（离心设置3500rpm，3-5min，常温）分离血清，样本预处理及衍生化方法同第一部分。

2.3 代谢组学检测和分析方法

操作和系统设置方法同第一部分

2.4 数据统计分析方法

分类变量用频率表示，用Fisher精确检验检验统计学差异。连续变量用中位数、上下限（IQR）表示。组间的统计学差异采用非参数检验（Mann-Whitney检验）进行分析。采用Spearman相关系数评价相关性。我们认为术中0.05对于任何不相关的变量具有统计学意义。某些不同代谢物的色谱峰面积数量级过大。为了更清晰的比较，我们对数据进行了标准化 $(X-\mu)/\sigma$ ， X 为代谢物峰值变量， μ 为变量的均值， σ 为标准差。在比较同源代谢物的过程中，我们仍然使用色谱峰面积进行直接比较。使用R(贝尔实验室版本4.0.0)、GraphPad Prism 8.0.2（GraphPad Software, San Diego, CA, US）和IBM SPSS（Windows Statistical Version 22.0, IBM Corp, Chicago, IL, USA）进行数据分析和制图。

3.研究结果

3.1 受试者基本信息

慢阻肺患者（稳定期）组对比健康组，可以看到患者群体的白细胞水平和反应炎症的指标CRP水平显著升高，但二者的BMI水平无显著性差异，可能是COPD组包含了GOLD1-2级轻症患者的缘故还未出现显著的营养不良的表现。慢阻肺患者中的吸烟指数更高，吸烟人数更多（见表3）。

表3.受试者基本信息

	健康对照组	COPD 组	<i>P</i>
N	20	140	——
性别, 男/女	13/7	113/27	0.141
年龄, 岁	52(50.00, 64.75)	60.00(53.00, 69.00)	0.056
BMI, kg/m ²	21.40(18.50, 22.50)	19.40(18.00, 22.05)	0.188
吸烟指数	0	550.00(225.00, 1050.00)	0.001
CRP, mg/dL	0.29(0.13, 0.63)	9.26(4.92, 14.28)	0.001
WBC, 10 ⁹ /L	5.49(4.42, 6.21)	7.07(5.65, 8.67)	0.001
淋巴细胞计数, 10 ⁹ /L	1.41(1.30, 1.60)	0.75(0.40, 1.25)	0.001
中性粒细胞计数, 10 ⁹ /L	2.98(2.37, 3.76)	4.37(3.29, 5.86)	0.001
单核细胞计数, 10 ⁹ /L	0.25(0.20, 0.30)	0.41(0.26, 0.52)	0.009
嗜酸性粒细胞计数, 10 ⁹ /L	0.00(0.00, 0.10)	0.01(0.00, 0.18)	0.154
FeNO, ppb	——	22.00(16.00, 33.75)	——
FEV ₁ , L	——	1.35(1.06, 1.94)	——
FEV ₁ pred, %	——	45.50(37.28, 64.00)	——
FVC, L	——	2.89(1.93, 3.50)	——
FVC pred, %	——	58.00(48.00, 80.00)	——
FEV ₁ /FVC	——	0.57(0.46, 0.66)	——

需要注意的是，由于表格中以数据中位数表现，因此健康对照组的吸烟指数为0并不意味着没有人吸烟，其平均值为9。

3.2 代谢产物及其整体通路水平分析

我们整理了研究中涉及到的代谢通路（见图5），对比处于稳定期（临床稳定期和4周稳定期）的慢阻肺患者组和健康组能量循环密切相关的代谢物，在均处于静息状态下可见慢阻肺患者的无氧酵解途径的上升趋势更为明显。慢阻肺患者群体中，由于长期吸烟，烟雾中含有的CO会显著降低血红蛋白氧结合能力⁽¹⁸⁾。氧化应激、炎症反应破坏肺实质，加之患者呼吸肌和运动肌在缺氧炎症的作用下出现不同程度的萎缩，进一步降低氧摄入能力促进无氧-有氧失衡^(6, 45)。如图所示，从总体上看，以柠檬酸为起点，慢阻肺患者组与健康组的TCA代谢循环趋势呈反向。为对比有氧（TCA cycle）和无氧（无氧酵解）差异，我们将两条通路所有代谢物标准化后行总体对比，正常组有氧:无氧标准化平均参数对比为-0.056: -0.034（*P*>0.05），研究中健康人在静息状态下有氧和无氧途径无显

著性差异。慢阻肺患者有氧:无氧标准化平均参数对比为-0.159 : -0.006 ($P<0.05$)，能量循环倾向于无氧通路，参数对比健康人可见慢阻肺患者的有氧途径的整体水平更低，有氧:无氧为-0.056 : -0.159 ($P<0.05$)。而在无氧酵解通路中，慢阻肺患者显著高于健康人-0.006:-0.034 ($P<0.01$)。

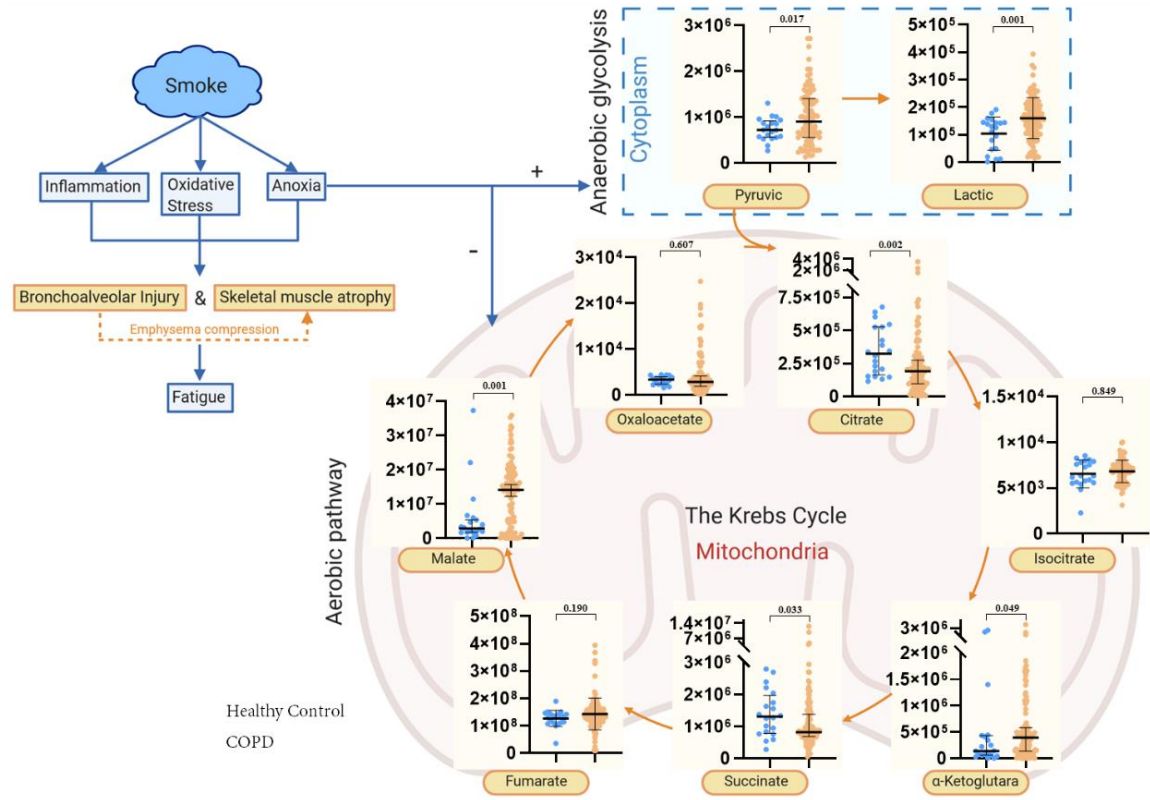


图5 慢阻肺患者能量代谢循环机制分析

COPD组 (n=110) 与健康对照组 (n=20) 代谢产物含量值见图5。对于两组相同代谢物的比较，代谢物含量的测定采用色谱积分峰面积数据，不同代谢物之间由于数量级差异较大，不能直接进行横向比较。这也是积分峰面积比较的局限性，本图统计分析采用非参数分析法 (Mann-Whitney)。丙酮酸-乳酸途径是在非线粒体无氧条件下进行的，在研究中定义为无氧途径或无氧糖酵解。TCA循环途径在线粒体中，并被定义为有氧途径。

3.3 慢阻肺患者群体代谢物及临床指标对比分析

3.3.1 根据GOLD分级，对比慢阻肺患者代谢水平变化

图6中可见GOLD4级慢阻肺患者的丙酮酸和乳酸水平最高。在TCA循环中，

似乎代谢物的变化并不是像与健康人对比那样随着缺氧程度的提高呈现出明显的反向循环差异。但是通过数据对比（表4），能量循环代谢物从GOLD1-4级表现出显著性差异（ P 均 <0.001 ），可见不同严重程度的慢阻肺患者能量代谢水平发生了显著改变。

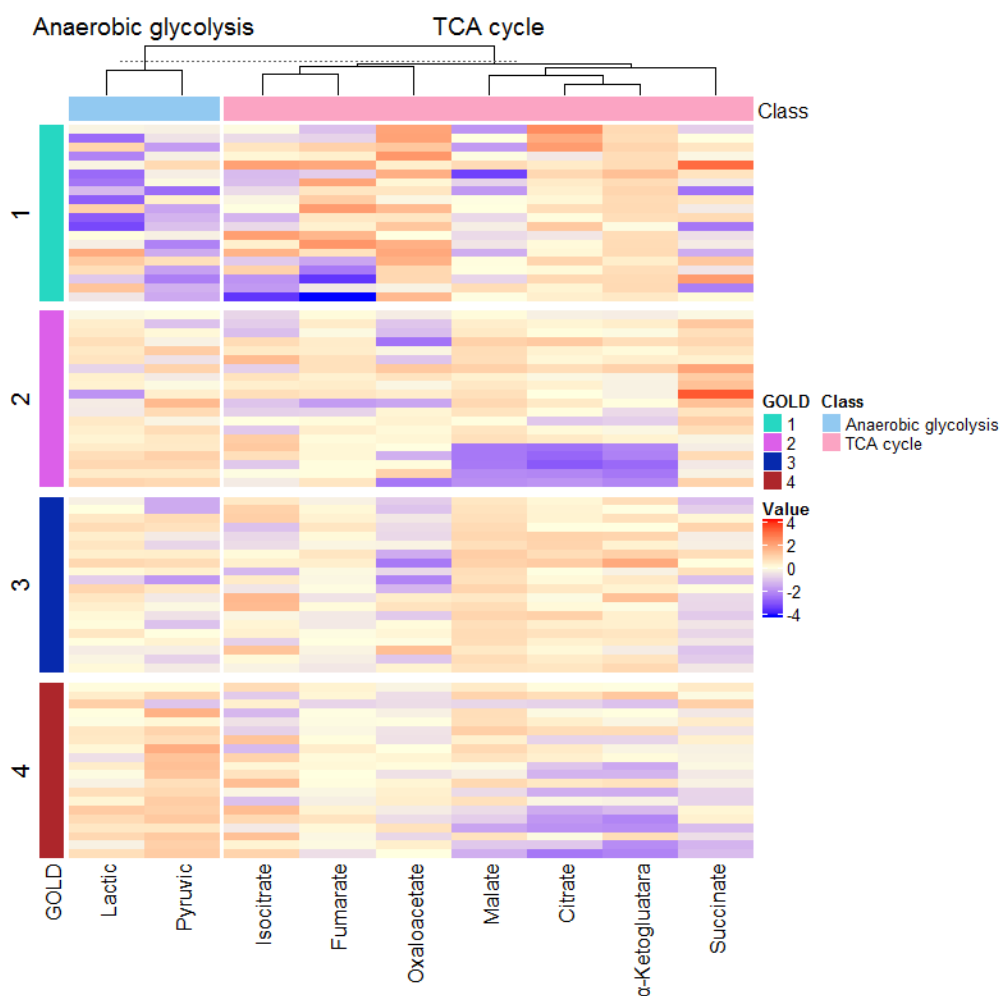


图6 慢阻肺患者根据GOLD分级代谢物水平热图

由于不同代谢物数量级不同，热图内将数据进行了标准化，采用 $\frac{x-\mu}{\sigma}$ 方法（ x 为代谢物峰值变量， μ 为变量平均值， σ 为标准差）。

表4 代谢物相对定量值

	Citrate	Isocitrate	α -Ketoglutarate	Succinate	Fumarate
GOLD 1	280963 (207466, 526922)	6016 (5113, 7267)	470029 (436684, 493603)	797968 (525751, 1502068)	163609333 (79253087, 266996514)
GOLD 2	183679 (24824, 253761)	6505 (5448, 7572)	118613 (17983, 221351)	1723236 (958589, 2352665)	148593599 (135982656, 161390248)
GOLD 3	262118 (204941, 420180)	6774 (5811, 7821)	304838 (178677, 492505)	679126 (483345, 1002766)	127104517 (115282924, 142195930)
GOLD 4	102591 (29761, 266119)	6933 (5601, 7969)	84242 (19067, 176249)	801744 (559955, 1191911)	133445197 (123669854, 144972015)
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
	Malate	Oxaloacetate	Pyruvic	Lactic	
GOLD 1	2687658 (589079, 5276120)	9142 (4014, 15023)	341844 (250720, 667237)	97024 (23308, 215680)	
GOLD 2	12629001 (1502792, 190037124)	2437 (841, 3496)	1090395 (713105, 1426819)	158513 (120824, 177039)	
GOLD 3	19723638 (16548573, 25057067)	1368 (920, 3131)	634869 (461232, 1028257)	145163 (124575, 173223)	
GOLD 4	10644293 (1451906, 18990206)	2367 (1552, 3343)	1607740 (1302137, 1888451)	159121 (120371, 192866)	
P	0.001	0.001	0.001	0.001	

3.3.2 慢阻肺急性加重期和稳定期对比

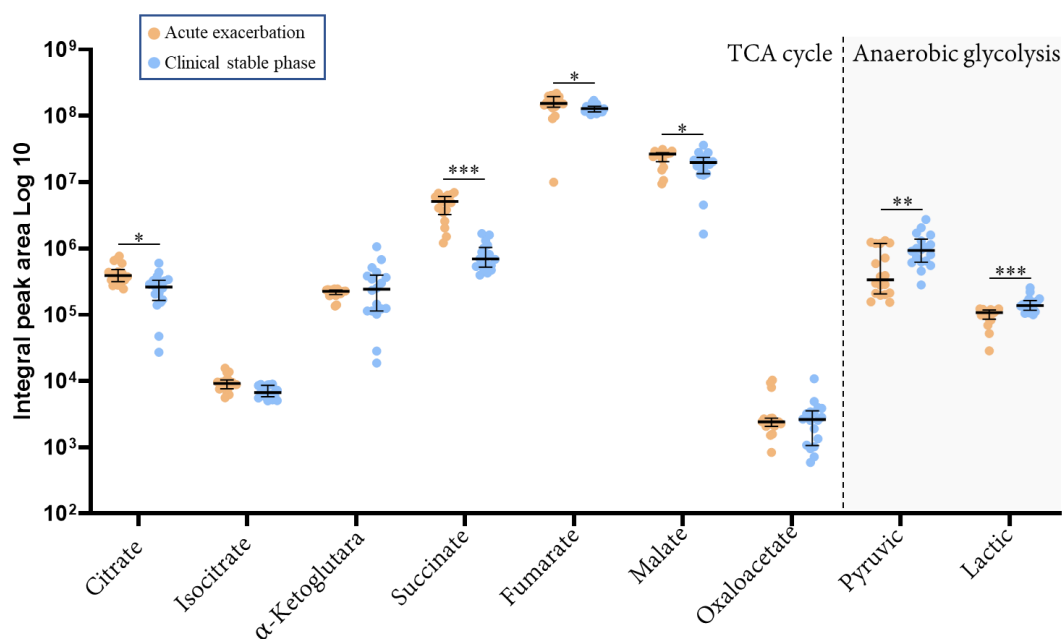


图7 急性加重期慢阻肺患者 (n=18)与治疗后期临床稳定期慢阻肺患者的比较分析统计方法采用Mann-Whitney, 差异表示为*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

为进一步对比同一批患者处于不同病程中的能量代谢物水平, 我们分析收集到急性加重信息的18名慢阻肺患者, 如图可以看出这些慢阻肺患者(GOLD3-4级)急性加重期的TCA有氧代谢水平显著高于院内临床稳定期, 无氧阶段代谢水平显著低于院内临床稳定期, P 值均 < 0.05 。这18名患者的有氧: 无氧途径(全病程急性加重期+临床稳定期)无显著性差异 -0.055: -0.038 ($P < 0.05$) (Figure 4), 但分别对比两个时期的有氧与无氧可见显著性差异, 急性加重期有氧: 无氧 -0.008: -0.035 ($P < 0.05$), 临床稳定期 -0.047: -0.003 ($P < 0.05$)。

另对比临床稳定期和4周稳定期的能量代谢差异, 4周稳定期标准化后有氧: 无氧平均参数为 -0.093: -0.056 ($P < 0.05$)。二者无氧酵解水平参数(临床: 4周)为 -0.003: -0.056 ($P < 0.05$)。二者有氧途径无显著相关性。

3.3.3 COPD 不同年龄段对比

在BMI水平无显著性差异的前提下, 我们对比了GOLD 3-4级不同年龄段的慢阻肺患者在临床稳定期于静息状态下的代谢水平(见表5)。可看到丙酮酸有显著的差异, 呈上升趋势, 但是乳酸并无显著差异。标准化平均参数为有氧(35-50: 51-65: > 65) = -0.017: -0.035: -0.019 ($P > 0.05$), 无氧(35-50: 51-65: > 65)

= -0.033: -0.037: -0.035 ($P>0.05$)。

表5不同年龄段慢阻肺患者代谢水平差异分析

Age	35-50	51-65	>65	<i>P</i>
Citrate	375972	238925	200031	0.001
	(333375, 439330)	(63399, 334124)	(151142, 299003)	
Isocitrate	6692	6489	6918	0.198
	(4152, 7305)	(5538, 7899)	(5460, 7835)	
α -Ketoglutarate	439659	251542	167429	0.001
	(363912, 550148)	(61623, 482630)	(113489, 394310)	
Succinate	696406	842446	966372	0.004
	(348606, 829340)	(669952, 1191911)	(570933, 1896617)	
Fumarate	119400080	140545866	135234770	0.017
	(103157208, 139314371)	(124718582, 158899600)	(120553859, 160767270)	
Malate	20079419	5370983	16654705	0.001
	(15998803, 24086870)	(1412507, 17981631)	(4760488, 20786000)	
Oxaloacetate	2017	2757	2391	0.076
	(1789, 2274)	(1636, 5926)	(1246, 3831)	
Pyruvic	727170	963985	981796	0.017
	(414746, 775189)	(437313, 1494262)	(556114, 1412934)	
Lactic	128465	155537	150542	0.069
	(92982, 135324)	(94247, 187931)	(108452, 183044)	

3.4 相关性分析

吸烟烟雾内含的CO会显著影响患者的氧摄入，因此与无氧途径密切相关，我们着重分析了丙酮酸和乳酸的趋势（图8）。可见吸烟指数越高丙酮酸和乳酸的水平就越高，同时反应疾病严重程度的GOLD等级也越高。

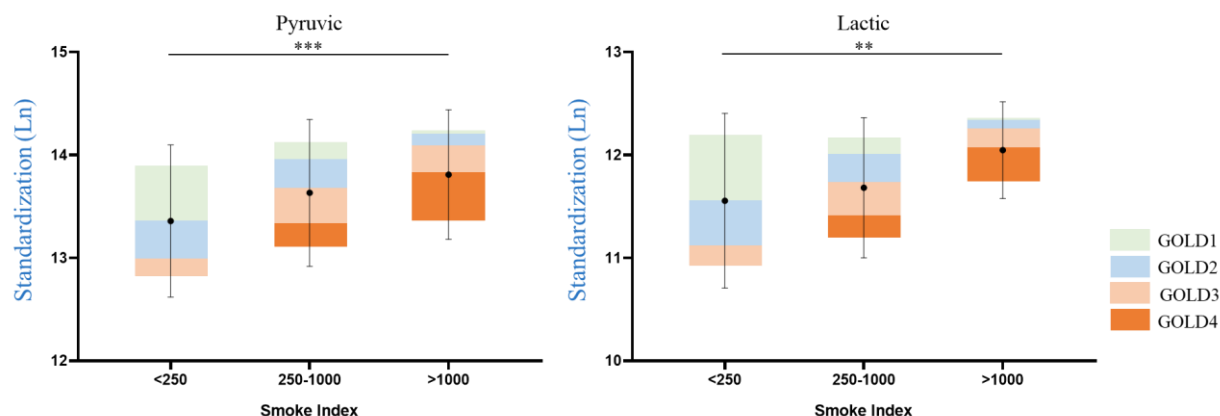


图8 吸烟与无氧途径的关系。烟雾指数数据收集于本研究的140名慢阻肺患者，包括临床稳定组、4周稳定组和40-50的年龄段的30名慢阻肺患者。采用Mann-Whitney统计方法，丙酮酸和乳酸组的<250和<1000吸烟指数有显著差异。**: $P < 0.01$ ***: $P < 0.001$ 。同时，吸烟指数越高的患者比例越高

为综合分析有氧和无氧循环通路与慢阻肺患者肺通气功能和患者症状表现的关联，反应无氧代谢途径的丙酮酸和乳酸与患者肺通气功能有显著负相关性，与此同时也与反应患者临床表现的CAT综合评分密切相关（见图9）。

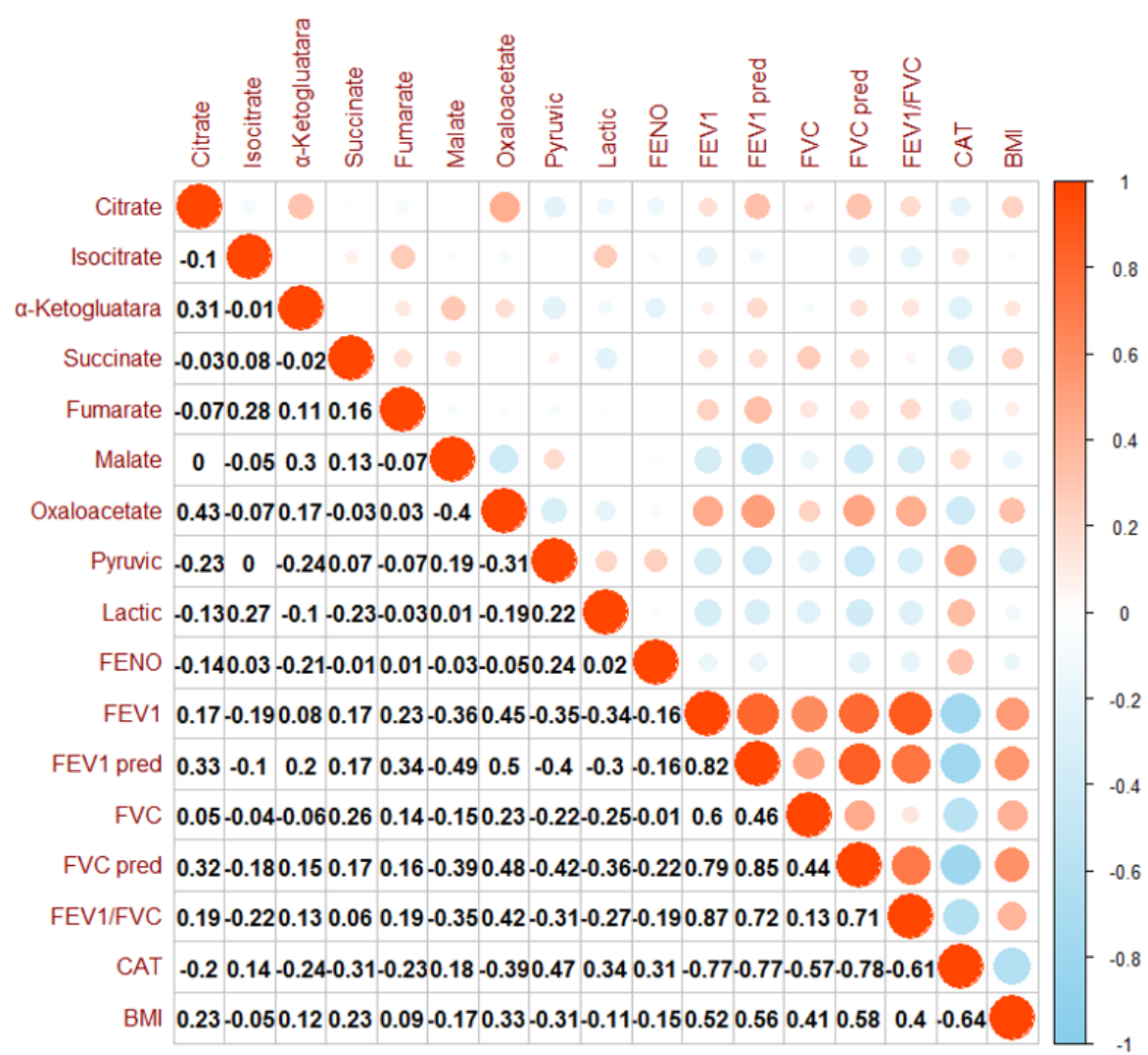


图9 慢阻肺患者能量代谢的综合相关性分析。采用Spearman相关法。相关性热图显示肺功能（FEV₁%与FEV₁/FVC）、CAT与BMI显著相关。代表缺氧程度的缺氧途径中的乳酸和丙酮酸也与上述指标相关（*P*均<0.05），表明缺氧-炎症-缺氧症状-营养状况同步变化。

4.讨论

应用靶向代谢组学检测方法对慢阻肺患者的有氧和无氧能量代谢途径进行分析，研究中我们发现在同样的静息条件下慢阻肺患者的无氧代谢循环较正常人更为亢进，部分患者予以氧疗改善肺换气功能，这在一定程度上会影响研究结果，我们推测对于非氧疗患者这一差异可能会更大。GOLD级别越高患者的能量供给越倾向于线粒体外的无氧酵解。急性加重入院患者以有氧途径为主，之后处于院内临床稳定期则以无氧循环为主。但本研究并未看出不同年龄段的显著性差异。另与吸烟指数行相关性对比，可以看出无氧酵解通路与烟雾致缺

氧机制有关联。与此同时，无氧通路也与患者的BMI和CAT score有显著性关联。

4.1 COPD能量代谢物质分析

TCA通路和丙酮酸-乳酸通路是能量代谢最主要的途径，它们所分别对应的有氧和无氧机制已经被人们所公认^(2, 35)。但本次研究中我们首次采用了代谢组学检测手段探索机体处于长期缺氧条件下的慢阻肺患者中的能量代谢机制。在与健康人对比中，可清晰的看到患者组无氧通路代谢物丙酮酸和乳酸水平显著升高，我们认为这与吸烟、肺实质破坏、呼吸肌损伤及运动能力下降有氧运动减少等多因素致机体缺氧有关。此外，Hara等人⁽²⁸⁾提出氧化应激引起线粒体自噬降解机制激活，抑制了TCA循环产能。尽管利用丙酮酸的途径有很多，但有氧循环是丙酮酸的最佳消耗途径，丙酮酸消耗下降堆积会造成无氧最终产物乳酸水平的上升，远离氧化磷酸化的正常途径并导致生物能量正常状态改变，这可能是氧化应激反应增强的原因之一^(24, 58)。而在TCA循环中，慢阻肺患者与正常人呈相对反向，我们认为这可能意味着患者群体内重要的TCA循环中间体苹果酸和延胡索酸堆积而无法进入下一个循环消耗从而被机体利用，这可能是慢阻肺患者TCA循环效率减低的重要节点，也可能与中间酶延胡索酸酶和苹果酸脱氢酶活性减低有关。

GOLD分级为评估慢阻肺患者病情严重程度的重要标准⁽³⁾。在本研究中可以看出有氧和无氧能量代谢途径随着病情加重都表现出显著性差异。GOLD分级主要根据FEV₁所反映的肺通气功能界定，有效氧摄入是影响能量循环效率的最关键因素⁽¹¹⁾。因此，我们认为无氧/有氧比例越高，机体产能越低下，患者就更易出现乏力和劳力性气促等症状。

在长期低效率供能（高无氧/有氧相对比值）和肺气肿压迫的双重作用下，患者的呼吸肌运动功能减退直接影响肺通气功能^(5, 10)。Jaitovich等人⁽³⁴⁾指出ATP产量下降是引起慢阻肺患者骨骼肌萎缩的原因之一，此外，代谢功能障碍、营养摄入和钙离子摄入敏感性等都会影响肌肉的正常力量和耐力，下肢障碍相较于上肢更为明显。CAT评分不仅包含症状，还包括患者的步行爬坡和劳作运动评估⁽²¹⁾。为对比肺通气功能受呼吸肌力量减退的影响，我们在评估CAT的同时也对比了肺功能参数。研究中发现无氧代谢物与CAT评分呈正相关，同时也与肺功能FEV₁%预测值和FEV₁/FVC有显著关联。可部分说明机体供能效率减低致

呼吸肌力量减退并影响肺通气功能，但这一过程是综合性的，肺过度充气压迫也会导致呼吸肌的压迫性萎缩。**Mortaz**等人⁽⁴⁷⁾在吸烟诱发肺气肿的体内模型中发现，与非吸烟者相比吸烟者肺泡灌洗液中的ATP水平更高，这意味着胞外游离的高水平ATP给中性粒细胞游离供能促使其外游聚集并分泌炎症因子和基质金属蛋白酶触发肺组织破坏。我们推测不均衡的能量燃料分布也会进一步降低呼吸肌和骨骼肌的有效供能。总之，机体低效供能和炎症耗能增加将会影响内环境稳态循环，加之患者的食欲减退营养摄入减少致低BMI将更不利于能量循环。

4.2 慢阻肺患者急性加重期能量代谢的对比性讨论

部分慢阻肺患者由于感染、环境或药物未规律应用等诱发因素出现病情急性加重，短期内出现咳嗽加剧、呼吸道分泌增多、呼吸困难加重，肺通气功能在此阶段显著下降⁽⁶²⁾。研究中发现在急性加重期，患者的有氧代谢高于无氧，而经过治疗后的院内临床稳定期无氧代谢高于有氧。但这并不意味着非中毒性（部分致机体中毒性外源性物质会促进呼吸酶类活性和电子传递链速度导致能量循环亢进）疾病急性加重患者的耗能都会上升。**Benjamin**等人⁽¹¹⁾提出急性肾损伤引起心肌急性缺血性损伤会导致氧化磷酸化过程受阻，能量水平会下降。而研究中的结果显然与之相反，**Laura**等人⁽⁴⁸⁾在一项动物研究中提出急性期状态刺激会引起代谢水平迅速升高，而诱发机体出现快速的状态改变。**Hall**等人⁽²⁶⁾提出，人体的能量摄入-消耗维持动态能量平衡，饮食、运动、药物、疾病等外界因素会打破这一平衡。因此我们推测，慢阻肺患者在持续性炎症的作用下，BMI水平进行性下降⁽⁷⁰⁾，机体消耗增加，已经处于能量失衡状态，尤其对于GOLD3-4级的慢阻肺急性加重期患者，其应激状态被激活，结合患者在急性期出现的喘息、大汗或发热的高代谢症状表现，耗能可能在这短期急性期内显著上升，TCA有氧循环会在这期间超过无氧酵解，能量消耗增加，为能量稳态的加速性失衡。经过治疗患者达到临床稳定期后无氧比例超过有氧，对比处于4周稳定期的慢阻肺患者，院内临床稳定期的乳酸水平更高，我们分析急性期患者的无氧代谢途径也会随之升高，在这个短期高耗能的阶段造成乳酸和丙酮酸堆积。无氧和有氧同时升高维持机体急性期高耗能状态。比较遗憾的是我们没有追踪到4周稳定期慢阻肺患者的院内临床稳定期治疗数据，因此无法做纵向水平

分析。

4.3 年龄因素和吸烟因素

不同年龄人群的能量代谢存在着差异⁽²²⁾。因此我们也对比了不同年龄段 GOLD3-4级慢阻肺患者的代谢水平。研究中发现了柠檬酸，琥珀酸和丙酮酸等单独代谢物的差异，可看出老年患者群体较中年患者丙酮酸的利用效率更低，产能下降。但是从总体上分析无氧和有氧途径并未看到显著性差异，可能与研究样本数量限制有关，也可能对于FEV₁%预测值<70%的慢阻肺患者来说，机体长期慢性缺氧对能量代谢的影响要高于年龄因素。

吸烟是引发慢阻肺的主要原因，烟雾中的CO影响血红蛋白氧交换能力，长期的烟雾暴露会对细胞和细胞器造成直接和间接性损伤，其中就包括有氧代谢场所---线粒体^(28, 68)。研究中可见吸烟指数越高的患者其丙酮酸和乳酸的水平就更高，GOLD3-4级患者占比也更高。在烟雾刺激下，线粒体DNA损伤、突变和缺失会影响其正常功能或激活自噬机制⁽²⁸⁾。Prakash等人⁽⁵³⁾提出线粒体对钙的调节、气道收缩、基因和蛋白质的管理、氧化应激反应所需要的能量支持发挥重要作用，尤其对于慢阻肺患者来说，线粒体功能障碍对气道的影响无疑是巨大的。不同类型细胞对线粒体调节功能的需求不同，尤其是对于具有类干细胞功能的二型肺泡上皮细胞来说，其分化修复肺上皮主要依赖线粒体氧化磷酸化供能⁽³⁸⁾。综上，我们分析，线粒体功能障碍不仅仅是无法正常利用丙酮酸进行有氧供能，还会导致肺实质损伤-修复失衡，出现肺气肿等表征并引起持续性气流受限，慢性喘息和气促还会进一步加重逐步萎缩的呼吸肌的疲劳程度和能量消耗。

5.结论

我们首次应用代谢组学检测方法对慢阻肺患者能量代谢循环分为有氧和无氧两条途径进行对比，相较于正常人慢阻肺患者的能量代谢更倾向于无氧酵解。GOLD级别越高病情越严重的患者丙酮酸和乳酸水平越高，机体供能越低效。对于慢阻肺急性加重期患者可能由于急性状态的继发，在短时间内更倾向于有氧途径，但无氧途径也会同时亢进，造成丙酮酸和乳酸堆积，经过治疗达到临床稳定期后无氧代谢物水平依然会高于有氧。可能由于样本量的缘故，研究中

并未发现不同年龄段的能量途径差异。通过综合性评价，我们进一步拓展了高倾向性无氧低效供能途径在肺组织损伤中意义，将慢阻肺患者能量-炎症-肺通气功能和运动受限机制联系了起来。

总体结论:

具有类拮抗作用的炎症相关代谢通路N-3和N-6整体水平在促炎和抗炎机制下同步上升，不仅可以反应稳定期慢阻肺患者的炎症水平，还与患者的肺通气功能和营养能量代谢障碍有明确的关联，从代谢角度证明了炎症进展过程中也会伴有营养能量的代谢障碍，在此基础上观察无氧和有氧两条通路，GOLD级别越高患者的无氧代谢水平更高。对于稳定期(临床稳定期和4周稳定期)慢阻肺患者更倾向于无氧能量途径，但急性加重期的患者两条能量途径同时亢进且在急性期内无氧高于有氧，但此时无氧状态较平稳期呈现升高趋势。通过综合性评价，我们进一步拓展了高倾向性无氧低效供能途径在肺组织损伤中意义，将慢阻肺患者能量-炎症-肺通气功能和运动受限机制联系了起来。

本文中的第一部分和第二部分已经整理成文章并发表

1.第一部分

International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Dovepress

open access to scientific and medical research

Open Access Full Text Article

ORIGINAL RESEARCH

Exploration of n-6 and n-3 Polyunsaturated Fatty Acids Metabolites Associated with Nutritional Levels in Patients with Severe Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease

This article was published in the following Dove Press journal:
International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease

2.第二部分

Full title: Metabolomic profiling of anaerobic and aerobic energy metabolic pathways in chronic obstructive pulmonary disease

short running title: Metabolomic profiling of metabolic pathways in COPD

Mingshan Xue 1*, Yifeng Zeng 1*, Runpei Lin 1, Hui-Qi Qu 2, Teng Zhang 3, Xiaohua Douglas Zhang

3, Yueting Liang 1, Yingjie Zhen1, Hao Chen 1, Zhifeng Huang 1, Haisheng Hu 1, Peiyan Zheng 1,

Hakon Hakonarson 2,4, Luqian Zhou 1#, Baoqing Sun 1#

Your manuscript has been accepted for publication in *Experimental Biology and Medicine*. Please complete and return the attached Color Reproduction Form as soon as possible. Your manuscript will be forwarded to the publisher for typesetting as soon as this form is received.

Sincerely,

Danna B. Zimmer, PhD

Assistant to the Editor-in-Chief



参考文献

- [1] 1. Adami A, Corvino RB, Calmelat RA, Porszasz J, Casaburi R, Rossiter HB. Muscle Oxidative Capacity Is Reduced in Both Upper and Lower Limbs in COPD. *Med Sci Sports Exerc.* 2020 Oct;52(10):2061-8.
- [2] 2. Akram M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. *Cell Biochem Biophys.* 2014 Apr;68(3):475-8.
- [3] 3. Alvar G, Agusti CV. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease-2020 Report. GLOBAL INITIATIVE FOR CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE. 2019.
- [4] 4. Anderson NM, Mucka P, Kern JG, Feng H. The emerging role and targetability of the TCA cycle in cancer metabolism. *Protein Cell.* 2018 Feb;9(2):216-37.
- [5] 5. Barreiro E, Gea J. Respiratory and Limb Muscle Dysfunction in COPD. *COPD.* 2015 Aug;12(4):413-26.
- [6] 6. Byun MK, Cho EN, Chang J, Ahn CM, Kim HJ. Sarcopenia correlates with systemic inflammation in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2017;12:669-75.
- [7] 7. Cai C, Bian X, Xue M, Liu X, Hu H, Wang J, Zheng SG, Sun B, Wu JL. Eicosanoids metabolized through LOX distinguish asthma-COPD overlap from COPD by metabolomics study. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2019;14:1769-78.
- [8] 8. Calder PC. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem Soc Trans.* 2017 Oct 15;45(5):1105-15.
- [9] 9. Calder PC, Laviano A, Lonnqvist F, Muscaritoli M, Ohlander M, Schols A. Targeted medical nutrition for cachexia in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized, controlled trial. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2018 Feb;9(1):28-40.
- [10] 10. Cavalheri V, Hill K, Donaria L, Camillo CA, Pitta F. Maximum voluntary ventilation is more strongly associated with energy expenditure during simple activities of daily living than measures of airflow obstruction or respiratory muscle strength in patients with COPD. *Chron Respir Dis.* 2012;9(4):239-40.
- [11] 11. Celli BR, Cote CG, Marin JM, Casanova C, Montes de Oca M, Mendez RA, Pinto Plata V, Cabral HJ. The body-mass index, airflow obstruction, dyspnea, and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2004 Mar 4;350(10):1005-12.
- [12] 12. Chong J, Soufan O, Li C, Caraus I, Li S, Bourque G, Wishart DS, Xia J. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic Acids Res.* 2018 Jul 2;46(W1):W486-W94.
- [13] 13. Christenson SA, van den Berge M, Faiz A, Inkamp K, Bhakta N, Bonser LR, Zlock LT, Barjaktarevic IZ, Barr RG, Bleecker ER, Boucher RC, Bowler RP, Comellas AP, Curtis JL, Han MK, Hansel NN, Hiemstra PS, Kaner RJ, Krishnanm JA, Martinez FJ, O'Neal WK, Paine R, 3rd, Timens W, Wells JM, Spira A, Erle DJ, Woodruff PG. An airway epithelial IL-

- 17A response signature identifies a steroid-unresponsive COPD patient subgroup. *J Clin Invest*. 2019 Jan 2;129(1):169-81.
- [14] 14. Collins PF, Yang IA, Chang YC, Vaughan A. Nutritional support in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): an evidence update. *J Thorac Dis*. 2019 Oct;11(Suppl 17):S2230-S7.
- [15] 15. Committee GS. GLOBAL STRATEGY FOR THE DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE 2021 REPORT. 2020.
- [16] 16. Committee GS. GLOBAL STRATEGY FOR THE DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE 2021 REPORT. 2021.
- [17] 17. Contoli M, Baraldo S, Conti V, Gnesini G, Marku B, Casolari P, Scrigner P, Morelli P, Saetta M, Spanevello A, Papi A. Airway inflammatory profile is correlated with symptoms in stable COPD: A longitudinal proof-of-concept cohort study. *Respirology*. 2020 Jan;25(1):80-8.
- [18] 18. Crowley TJ, Andrews AE, Cheney J, Zerbe G, Petty TL. Carbon monoxide assessment of smoking in chronic obstructive pulmonary disease. *Addict Behav*. 1989;14(5):493-502.
- [19] 19. Das UN. Ageing: Is there a role for arachidonic acid and other bioactive lipids? A review. *J Adv Res*. 2018 May;11:67-79.
- [20] 20. Duvall MG, Levy BD. DHA- and EPA-derived resolvins, protectins, and maresins in airway inflammation. *Eur J Pharmacol*. 2016 Aug 15;785:144-55.
- [21] 21. Finch S, Laska IF, Abo-Leyah H, Fardon TC, Chalmers JD. Validation of the COPD Assessment Test (CAT) as an Outcome Measure in Bronchiectasis. *Chest*. 2020 Apr;157(4):815-23.
- [22] 22. Gaesser GA, Tucker WJ, Sawyer BJ, Bhammar DM, Angadi SS. Cycling efficiency and energy cost of walking in young and older adults. *J Appl Physiol* (1985). 2018 Feb 1;124(2):414-20.
- [23] 23. Gea J, Barreiro E. Nutritional abnormalities and chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2019 May 1;23(5):531-2.
- [24] 24. Gladden LB. A lactatic perspective on metabolism. *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Mar;40(3):477-85.
- [25] 25. Gray LR, Tompkins SC, Taylor EB. Regulation of pyruvate metabolism and human disease. *Cell Mol Life Sci*. 2014 Jul;71(14):2577-604.
- [26] 26. Hall KD, Sacks G, Chandramohan D, Chow CC, Wang YC, Gortmaker SL, Swinburn BA. Quantification of the effect of energy imbalance on bodyweight. *Lancet*. 2011 Aug 27;378(9793):826-37.
- [27] 27. Hancu A. Nutritional Status as a Risk Factor in COPD. *Maedica (Bucur)*. 2019 Jun;14(2):140-3.

- [28] 28. Hara H, Kuwano K, Araya J. Mitochondrial Quality Control in COPD and IPF. *Cells*. 2018 Jul 24;7(8).
- [29] 29. Huang Q, Tan Y, Yin P, Ye G, Gao P, Lu X, Wang H, Xu G. Metabolic characterization of hepatocellular carcinoma using nontargeted tissue metabolomics. *Cancer Res*. 2013 Aug 15;73(16):4992-5002.
- [30] 30. Hui S, Ghergurovich JM, Morscher RJ, Jang C, Teng X, Lu W, Esparza LA, Reya T, Le Z, Yanxiang Guo J, White E, Rabinowitz JD. Glucose feeds the TCA cycle via circulating lactate. *Nature*. 2017 Nov 2;551(7678):115-8.
- [31] 31. Ichiwata T, Sasao G, Abe T, Kikuchi K, Koyama K, Fujiwara H, Nagai A, Kuwahira I, Nagao K. Oxidative capacity of the skeletal muscle and lactic acid kinetics during exercise in healthy subjects and patients with COPD. *Adv Exp Med Biol*. 2010;662:537-43.
- [32] 32. Innes JK, Calder PC. Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2018 May;132:41-8.
- [33] 33. Itoh M, Tsuji T, Nemoto K, Nakamura H, Aoshiba K. Undernutrition in patients with COPD and its treatment. *Nutrients*. 2013 Apr 18;5(4):1316-35.
- [34] 34. Jaitovich A, Barreiro E. Skeletal Muscle Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. What We Know and Can Do for Our Patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Jul 15;198(2):175-86.
- [35] 35. Jha MK, Song GJ, Lee MG, Jeoung NH, Go Y, Harris RA, Park DH, Kook H, Lee IK, Suk K. Metabolic Connection of Inflammatory Pain: Pivotal Role of a Pyruvate Dehydrogenase Kinase-Pyruvate Dehydrogenase-Lactic Acid Axis. *J Neurosci*. 2015 Oct 21;35(42):14353-69.
- [36] 36. Johnson M, McElhenney WH, Egnin M. Influence of Green Leafy Vegetables in Diets with an Elevated omega-6:omega-3 Fatty Acid Ratio on Rat Blood Pressure, Plasma Lipids, Antioxidant Status and Markers of Inflammation. *Nutrients*. 2019 Jan 31;11(2).
- [37] 37. Khaddaj-Mallat R, Morin C, Rousseau E. Novel n-3 PUFA monoacylglycerides of pharmacological and medicinal interest: Anti-inflammatory and anti-proliferative effects. *Eur J Pharmacol*. 2016 Dec 5;792:70-7.
- [38] 38. Kosmider B, Lin CR, Karim L, Tomar D, Vlasenko L, Marchetti N, Bolla S, Madesh M, Criner GJ, Bahmed K. Mitochondrial dysfunction in human primary alveolar type II cells in emphysema. *EBioMedicine*. 2019 Aug;46:305-16.
- [39] 39. Langer D, Ciavaglia C, Faisal A, Webb KA, Neder JA, Gosselink R, Dacha S, Topalovic M, Ivanova A, O'Donnell DE. Inspiratory muscle training reduces diaphragm activation and dyspnea during exercise in COPD. *J Appl Physiol (1985)*. 2018 Aug 1;125(2):381-92.
- [40] 40. Lareau SC, Fahy B, Meek P, Wang A. Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Jan 1;199(1):P1-P2.
- [41] 41. Laszlo G. Standardisation of lung function testing: helpful guidance from the ATS/ERS Task Force. *Thorax*. 2006 Sep;61(9):744-6.

- [42] 42. Lemoine SC, Brigham EP, Woo H, Hanson CK, McCormack MC, Koch A, Putcha N, Hansel NN. Omega-3 fatty acid intake and prevalent respiratory symptoms among U.S. adults with COPD. *BMC Pulm Med*. 2019 May 21;19(1):97.
- [43] 43. Leuti A, Maccarrone M, Chiurchiu V. Proresolving Lipid Mediators: Endogenous Modulators of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:8107265.
- [44] 44. Lovewell RR, Sasseti CM, VanderVen BC. Chewing the fat: lipid metabolism and homeostasis during *M. tuberculosis* infection. *Curr Opin Microbiol*. 2016 Feb;29:30-6.
- [45] 45. Magallon M, Navarro-Garcia MM, Dasi F. Oxidative Stress in COPD. *J Clin Med*. 2019 Nov 13;8(11).
- [46] 46. Martinez-Reyes I, Chandel NS. Waste Not, Want Not: Lactate Oxidation Fuels the TCA Cycle. *Cell Metab*. 2017 Dec 5;26(6):803-4.
- [47] 47. Mortaz E, Folkerts G, Nijkamp FP, Henricks PA. ATP and the pathogenesis of COPD. *Eur J Pharmacol*. 2010 Jul 25;638(1-3):1-4.
- [48] 48. Musazzi L, Sala N, Tornese P, Gallivanone F, Belloli S, Conte A, Di Grigoli G, Chen F, Ikinici A, Treccani G, Bazzini C, Castiglioni I, Nyengaard JR, Wegener G, Moresco RM, Popoli M. Acute Inescapable Stress Rapidly Increases Synaptic Energy Metabolism in Prefrontal Cortex and Alters Working Memory Performance. *Cereb Cortex*. 2019 Dec 17;29(12):4948-57.
- [49] 49. Newgard CB. Metabolomics and Metabolic Diseases: Where Do We Stand? *Cell Metab*. 2017 Jan 10;25(1):43-56.
- [50] 50. Nguyen HQ, Rondinelli J, Harrington A, Desai S, Amy Liu IL, Lee JS, Gould MK. Functional status at discharge and 30-day readmission risk in COPD. *Respir Med*. 2015 Feb;109(2):238-46.
- [51] 51. Paplinska-Goryca M, Rubinsztajn R, Nejman-Gryz P, Przybyłowski T, Krenke R, Chazan R. The association between serological features of chronic *Chlamydia pneumoniae* infection and markers of systemic inflammation and nutrition in COPD patients. *Scand J Clin Lab Invest*. 2017 Dec;77(8):644-50.
- [52] 52. Pizzini A, Lunger L, Sonnweber T, Weiss G, Tancevski I. The Role of Omega-3 Fatty Acids in the Setting of Coronary Artery Disease and COPD: A Review. *Nutrients*. 2018 Dec 2;10(12).
- [53] 53. Prakash YS, Pabelick CM, Sieck GC. Mitochondrial Dysfunction in Airway Disease. *Chest*. 2017 Sep;152(3):618-26.
- [54] 54. Racanelli AC, Kikkers SA, Choi AMK, Cloonan SM. Autophagy and inflammation in chronic respiratory disease. *Autophagy*. 2018;14(2):221-32.
- [55] 55. Rauckhorst AJ, Gray LR, Sheldon RD, Fu X, Pawa AD, Feddersen CR, Dupuy AJ, Gibson-Corley KN, Cox JE, Burgess SC, Taylor EB. The mitochondrial pyruvate carrier mediates high fat diet-induced increases in hepatic TCA cycle capacity. *Mol Metab*. 2017 Nov;6(11):1468-79.

- [56] 56. Reis AJ, Alves C, Furtado S, Ferreira J, Drummond M, Robalo-Cordeiro C, Cronica GD-GdInDPO. COPD exacerbations: management and hospital discharge. *Pulmonology*. 2018 Nov - Dec;24(6):345-50.
- [57] 57. Rutting S, Papanicolaou M, Xenaki D, Wood LG, Mullin AM, Hansbro PM, Oliver BG. Dietary omega-6 polyunsaturated fatty acid arachidonic acid increases inflammation, but inhibits ECM protein expression in COPD. *Respir Res*. 2018 Nov 3;19(1):211.
- [58] 58. Sabbatinelli J, Prattichizzo F, Olivieri F, Procopio AD, Rippo MR, Giuliani A. Where Metabolism Meets Senescence: Focus on Endothelial Cells. *Front Physiol*. 2019;10:1523.
- [59] 59. Saini RK, Keum YS. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance - A review. *Life Sci*. 2018 Jun 15;203:255-67.
- [60] 60. Sharon G, Cruz NJ, Kang DW, Gandal MJ, Wang B, Kim YM, Zink EM, Casey CP, Taylor BC, Lane CJ, Bramer LM, Isern NG, Hoyt DW, Noecker C, Sweredoski MJ, Moradian A, Borenstein E, Jansson JK, Knight R, Metz TO, Lois C, Geschwind DH, Krajmalnik-Brown R, Mazmanian SK. Human Gut Microbiota from Autism Spectrum Disorder Promote Behavioral Symptoms in Mice. *Cell*. 2019 May 30;177(6):1600-18 e17.
- [61] 61. Shi L, Brunius C, Johansson I, Bergdahl IA, Lindahl B, Hanhineva K, Landberg R. Plasma metabolites associated with healthy Nordic dietary indexes and risk of type 2 diabetes-a nested case-control study in a Swedish population. *Am J Clin Nutr*. 2018 Sep 1;108(3):564-75.
- [62] 62. Shi L, Zhu B, Xu M, Wang X. Selection of AECOPD-specific immunomodulatory biomarkers by integrating genomics and proteomics with clinical informatics. *Cell Biol Toxicol*. 2018 Apr;34(2):109-23.
- [63] 63. Simopoulos AP. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients*. 2016 Mar 2;8(3):128.
- [64] 64. Sun JL, Zhao LL, Wu H, Liu Q, Liao L, Luo J, Lian WQ, Cui C, Jin L, Ma JD, Li MZ, Yang S. Acute hypoxia changes the mode of glucose and lipid utilization in the liver of the largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Sci Total Environ*. 2020 Apr 15;713:135157.
- [65] 65. Sunny NE, Kalavalapalli S, Bril F, Garrett TJ, Nautiyal M, Mathew JT, Williams CM, Cusi K. Cross-talk between branched-chain amino acids and hepatic mitochondria is compromised in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015 Aug 15;309(4):E311-9.
- [66] 66. Szucs B, Szucs C, Petrekanits M, Varga JT. Molecular Characteristics and Treatment of Endothelial Dysfunction in Patients with COPD: A Review Article. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 4;20(18).
- [67] 67. Varraso R, Barr RG, Willett WC, Speizer FE, Camargo CA, Jr. Fish intake and risk of chronic obstructive pulmonary disease in 2 large US cohorts. *Am J Clin Nutr*. 2015 Feb;101(2):354-61.
- [68] 68. Vij N, Chandramani-Shivalingappa P, Van Westphal C, Hole R, Bodas M. Cigarette

- smoke-induced autophagy impairment accelerates lung aging, COPD-emphysema exacerbations and pathogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2018 Jan 1;314(1):C73-C87.
- [69] 69. Wang DD, Hu FB. Precision nutrition for prevention and management of type 2 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018 May;6(5):416-26.
- [70] 70. Xue M, Cai C, Guan L, Xu Y, Lin J, Zeng Y, Hu H, Chen R, Wang H, Zhou L, Sun B. Exploration of n-6 and n-3 Polyunsaturated Fatty Acids Metabolites Associated with Nutritional Levels in Patients with Severe Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2020;15:1633-42.

文献综述

慢阻肺进展过程中的炎症-能量代谢通路分析

慢性阻塞性肺疾病COPD与缺血性心脏病和中风位列全球三大致死性疾病，在低收入和中等收入的人群中更为多见，为最常见的慢性呼吸系统性疾病，病程多为长期进展性患者也可死于其多种并发症如肺心病、呼吸衰竭和气胸等，这一过程是复杂的，多种因素可共同造成疾病的进行性发展^[1, 2]。吸烟、污染、生物燃料等外源性因素为主要危险因素，我国以吸烟慢阻肺患者最为多见，这是一个公认的危险因素，烟草烟雾中的多种成分可对气道造成直接或间接性的诱导凋亡或坏死性损伤，其中CO会显著降低红细胞的氧释放能力^[3]。有研究表明，长期烟雾暴露可显著改变蛋白质、脂肪和葡萄糖的代谢水平，尤其是加速了糖酵解的速率^[3]。早期及时干预是可逆的，可以显著改善患者的肺功能水平，但其鉴于其具有很长的临床前期，COPD的早期诊断是较难的而且干预往往是显著滞后的加之在早期患者的依从性较差（主要表现在戒烟和规律用药），多数患者在出现症状后行肺功能检查时已经呈现出显著的阻塞性通气功能障碍^[2]。

COPD是一种高度异质性的以不完全可逆的气流受限为主要特征的慢性小气道炎症性疾病，在气道肺泡损伤发生损伤的同时还可损伤肺间质及肺血管影响通气和换气功能^[4]。肺功能是诊断和评估COPD的“金标准”，其中FEV₁、FVC和FEV₁/FVC不仅可以判断患者的通气功能阻塞程度以指导治疗还可反应预后及急性加重发生率^[5]。COPD的急性加重期是在长期气道炎症、氧化应激、机体缺氧的内环境中由于外源性感染或内源性促炎条件亢进以及其他伴发病等原因致使代谢途径脱离正常水平所诱发，患者在短期内出现肺通气功能急剧下降，炎症因子和驱动因子释放增加，出现呼吸困难和胸闷等表现^[6]。

1.慢阻肺患者营养消耗和肌肉功能障碍

对于多数依从性较好的患者来说，规律用药、氧疗、预防感染、营养支持和肺康复运动等可以有效控制病情并降低AECOPD的发作频率，减缓肺通气功能的下降速度^[7]。但慢阻肺患者营养状态仍然处于慢性消耗的阶段，加上缺氧、

炎症等全身性负面效应和久坐习惯，如果没有及时科学地加以高蛋白类营养支持，患者体内的蛋白质尤其是肌肉蛋白会逐渐流失，最直观的表现四肢肌肉乏力，尤其是下肢肌肉最为明显，体现在呼吸运动吃力、步行气喘和体力下降等^[1, 8, 9]。此外，呼吸肌萎缩会造成患者吸气运动做功下降，肺通气功能进一步减少^[9]。因此，肌肉萎缩会给患者的生活质量带来直接的影响^[8]。但有研究指出，呼吸肌尤其是膈肌功能障碍和骨骼肌功能的障碍并非同步，这是由于二者的肌纤维类型不同（Ⅰ型肌纤维-慢肌纤维，Ⅱ型肌纤维-快肌纤维），对于有氧和无氧代谢的依赖也不同。Ⅰ型依赖有氧氧化，Ⅱ型则为无氧途径，后者更容易疲劳^[9, 10]。在缺氧环境中，不同部位的肌肉纤维比例出现改变，骨骼肌的Ⅱ型占比更高抗疲劳功能显著下降而呼吸肌的代谢效率会增高，但长期总肌纤维数量减少会导致呼吸运动能力下降^[9, 11]。COPD的肌肉障碍（肌肉萎缩、恶病质和肌肉减少）的相关性研究并不多，由于老年患者多伴有其他慢性系统性疾病，因此这一机制往往是多元的。能量供给障碍损伤细胞膜内外离子交换，后者导致骨骼肌纤维电信号传导障碍和细胞器尤其是线粒体产ATP供能异常，不仅破坏肌细胞结构同时干扰了肌纤维正常收缩，无法顺利将化学能转换为机械能从而导致能量生成障碍，形成进行性恶化性循环^[12, 13]。

2.代谢组学分析法

代谢组学是一种更为直观的实时的观察机体真实发生的内环境稳态变化的技术，作为一种全新的诊断技术可分析多种样本如血清、血浆、尿液、唾液、BALF、脑脊液、呼出气冷凝液等，适应性强^[14]。组学技术主要包括代谢成分分析和代谢流分析，前者主要分析代谢物的含量，后者主要分析代谢物的流速。需要注意的是，含量高并不意味着流速快，节段通路由于酶类失活或抑制、神经体液调控和外界环境改变等因素出现“断流”或“少流”，在此节段通路就会出现上游代谢物水平增高，但整体流动速率减慢的情况，而如果代谢物生成减少但促进通路流动的因素亢进就会出现代谢物含量降低而流动速率增快的表现^[15]。因此评估通路最好的方法为代谢成分分析和代谢流分析相结合的方式。正常情况下代谢物的流入和流出处于平衡状态，但病理条件下很容易观察到代谢物或阶段通路水平的升高和流速的改变^[15]。这种直观的方式也使得代谢组学更适用于患者生命状态的分析，这也是代谢组学作为一门下游（基因组学→蛋白组

学→代谢组学)生物科学技术的优势^[16]。从定向检测的角度可将代谢组学又分为靶向和非靶向,靶向代谢组学多用于临床代谢物和通路的研究,非靶向代谢组学多用于中药和未知物质的成分检测^[17]。

多系统参与COPD的慢性或急性进展,患者具有年龄大、合并症多、疾病表现不明显、个体差异大等特征,分析总体机制变化难度较大。单标记物分析具有很大的局限性,而代谢通路如网状一样,每一种中间代谢物既有来源也有汇集,因此通路和通路间探索可能会更能反映机制的交联性。本研究中主要从COPD的核心机制:缺氧-炎症-营养进行探索,分别为能量代谢循环通路(TCA和无氧酵解),PUFAs炎症相关代谢通路(N-3/N-6)及营养状态分析。

3.炎症相关不饱和脂肪酸通路

PUFAs是最常见的应用至临床研究中的代谢物质,鉴于其与炎症和营养的密切关联,不仅仅是COPD,心血管系统、内分泌系统和血液系统等疾病都有探索PUFAs的相关性研究,覆盖了临床、营养学、康复和护理学等多个医学领域,是具有一定普适性的研究方向^[18-20]。有学者提出,这种普适性注定了其有着临床特异性较低的缺陷,在分析PUFAs时一定要结合患者具体的临床表型。但Sato^[21]和Jasbi^[22]等人的针对特定代谢物含量分析的研究还是发现了某种代谢物具有一定的特异性。因此我个人认为,代谢物的特异性不仅仅位于种类筛选上,还可能位于不同类型代谢物趋势的组合,通路的促进或抑制等方面。此外,对于不同疾病的患者同种代谢物水平的变化可能也会对未来可能出现的急性加重或恶化做预警或做病程末的预后评估,因为机体应激急性期阶段内环境稳态固然有较大的水平的波动,Newgard^[23]和Rinschen^[16]等人也提出了这一点,当然也更不能将“特异性”与“研究价值”的概念做等同并造成唯特异性论的观点。在不同疾病中,PUFAs类代谢物呈现出不同的趋势和流动倾向,机体的内环境稳态调节为多系统参与,机制复杂,加之目前还存在很多功能未知的代谢物有待发掘,因此PUFAs的趋势组合所反映的炎症进展一直是热门且具有争议的部分。以甲基碳为起点PUFAs碳链上第一个双键位置来将其分为N-3、N-6和N-9等,也可书写为Omega-或 ω -^[24]。N-3和N-6类PUFAs由于人体内无法合成,因此被定义为必需脂肪酸^[25]。

N-3

N-3类代谢物常见于深海鱼类虾类和亚麻籽等植物种子中，其广泛的抗炎作用已经得到了公认，另有研究表明N-3还具有骨骼肌细胞的保护作用但这一机制还有待探索^[26]。N-3包括ALA、EPA、DHA等，可通过合成特异性促溶解介质SPMs，包括resolvins，maresins和protectins，前两者都有着不同的亚型，resolvins分为D型（1-6）和E型（1-3），maresins分为1型和2型，它们的抗炎作用目前在动物实验中得到了初步证实^[27]。resolvin E1、resolvin D1、protectin D1可抑制中性粒细胞跨上皮迁移，减轻中性粒细胞局部浸润的炎症效应，resolvin D1还可抑制IL-1 β 释放^[27, 28]。

N-3类常见代谢物抗炎机制整理

N-3	抗炎机制	参考
ALA	抑制脂多糖的炎症诱导作用，抑制 TNF- α 的生成，抑制 NOS 蛋白，抑制 COX-2 蛋白	[29]
EPA	竞争性抑制 ARA 的促炎因子（PG，LT，TX）转化作用，调节炎症细胞活性（淋巴、T 和 NK 细胞等）	[24]
DPA	抑制 IL-1 β ，TNF- α 和 IL-6 的释放	[24]
DHA	降低 TNF- α 、IL-6、MCP-1 和 IL-10 表达，降低炎症蛋白水平	[30]

N-6

N-6类多存在于植物油和肉类中，作用与N-3相反，具有促炎作用。人体摄入的N-6类主要为LA，通过去饱和作用形成GLA，之后形成DGLA，然后进一步去饱和形成ARA^[31]。ARA是N-6途径发挥促炎作用的核心物质，也是强效促炎介质的直接前体其中最主要的为前列腺素和白三烯类，可间接决定促炎症反应的强度^[32]。它通过脂氧合酶LOX、环氧合酶COX和细胞色素P450三条途径来合成不同作用的类二十烷酸物质从而发挥不同的促炎作用^[32]。比如ARA转化成PGD2、PGE2，PGI2，TXA2和PGF-2 α 为COX途径，TXA2、LTC4，LTD4，LTE4为LOX途径，二氢麦角碱为P450途径，进而出现血管舒张、支气管收缩、黏液分泌增加、内皮通透性增加、发热等炎症表现^[31]。

ARA下游类二十烷酸代谢物

以ARA作为直接前体，除上述促炎物质外的类二十烷酸包括氢过氧酸HPETE和羟基过氧酸HETE以及其多种亚型，这类代谢物质由于易于降解的特

性导致其峰值较低，因此对于前处理的条件要求较高，较难探索和分析。根据氧化位点即氧分子加载AA、LA或GLA双键位置来命名，最主要的为5-，12-，15-三类。根据R-S构型命名法，还可分为S和R型，如12S-HETE与12R-HETE二者的作用也是截然不同的。这类由ARA转换的不同类型的类二十烷酸代谢物在多种器官中发挥不止于炎症的广泛作用。

4.能量循环通路

与炎症通路密切的为能量代谢通路，炎症反应如白细胞外游、发热、吞噬作用等都需要能量支持，尤其是急性期或机体应激阶段伴随着大量的能量调动^[33]。对于COPD这类慢性缺氧消耗性疾病会存在糖酵解过程的亢进和有氧途径的抑制，对于肝功能障碍的疾病会出现糖异生途径减弱等，不同疾病有着独特的能量物质波动趋势。此外，机体代偿性的活动，如反射性呼吸加深加快过度会进一步加速能量消耗。根据代谢途径分为有氧和无氧。

有氧途径

有氧途径最具代表性的为TCA循环也称柠檬酸循环，但是缺氧或炎症损伤会破坏TCA场所--线粒体的结构和功能，干扰电子传递链、呼吸酶活性和代谢产物转运。不同类型的细胞对线粒体的需求是不同的，心肌细胞和骨骼肌细胞对线粒体的需求更大，通过正-负调节机制来维持供能-耗能平衡，在代偿过程中线粒体的数量和体积也会发生对应的改变以维持生命活动供能^[34]。但这一循环通路因外源或内源性抑制时，不同呼吸酶活性的下降会出现对应上游代谢产物堆积，如：琥珀酸或富马酸等^[34]。

无氧途径

慢阻肺患者机体会处于慢性缺氧环境，在疾病进展过程中机体代偿性机制（缺氧性刺激中枢或外周感受器）的调节下，呼吸运动增大，能量负荷增高^[35]。乳酸通常用于检测骨骼肌负荷增加后无氧代谢反应的亢进程度。对于呼吸肌来说最主要的主动做功的为吸气肌引导的吸气运动。需要注意的是此过程与无氧代谢无乳酸的增高并不平行，在疾病早期由于肌肉的代偿调节能力，可以通过有氧代谢来供能，此外肌肉乳酸产生的速率与肝脏分解乳酸的速率等同以维持乳酸的低水平。但这一通气程度是有范围的，Peter等人^[36]提出了健康人为660（600-720）cmH₂O，慢阻肺患者为679（511-720）cmH₂O的代偿性通气范围即

机体存在代偿性呼吸阈值，在此范围内乳酸可不升高，同时还指出在失代偿期乳酸的升高与患者肺换气功能有着显著关联。呼吸肌长期高负荷运动必然会导致呼吸肌疲劳，加之慢性炎症和缺氧对呼吸肌本身的损伤以及激活细胞凋亡等机制，呼吸肌的有效做功逐步减少，乳酸的逐步累积也会对组织细胞造成破坏引起代谢性酸中毒。这也引出了一个关键问题，呼吸运动康复是否会引起乳酸堆积程度的加剧，短期内是肯定的，但采用科学的呼吸策略在阈负荷内进行护理康复以避免呼吸肌过度疲劳，从长期来看是对患者有益的，可是对于晚期即 GOLD4期的患者这一改善通常不乐观^[36, 37]。对于急性加重期的慢阻肺患者，平滑肌收缩、黏液阻塞、血管上皮通透性增加渗出增加等加大了气道阻力，肺泡过度膨胀，肺容积增大肺吸气所需要克服的阻力更大，同时呼吸肌长度张力曲线无法维持高效的肌纤维重叠，横桥减少收缩力进一步减弱^[33]。

5.总结与展望

慢阻肺患者的慢性炎症和缺氧导致机体出现多系统功能障碍，注定了慢阻肺的研究是需要多元化的，代谢组学通路对于评估复杂的不同机制相互影响的慢性疾病具有很大优势，同一种检测技术可以同时探索不同通路的变化趋势及相互之间的关联，这种反馈也是实时的且更为客观的。因此，代谢组学可用于评估COPD复杂的病理机制和后续康复治疗的指导。

参考文献

- [1] Committee GS: GLOBAL STRATEGY FOR THE DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE 2021 REPORT. 2021.
- [2] Lange P, Ahmed E, Lahmar ZM, Martinez FJ, Bourdin A: Natural history and mechanisms of COPD. *Respirology* 2021, 26(4):298-321.
- [3] Song Q, Chen P, Liu XM: The role of cigarette smoke-induced pulmonary vascular endothelial cell apoptosis in COPD. *Respir Res* 2021, 22(1):39.
- [4] Soni S, Garner JL, O'Dea KP, Koh M, Finney L, Tirlapur N, Srikanthan K, Tenda ED, Aboelhassan AM, Singh S et al: Intra-alveolar neutrophil-derived microvesicles are associated with disease severity in COPD. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021, 320(1):L73-L83.
- [5] Contoli M, Morandi L, Di Marco F, Carone M: A perspective for chronic obstructive pulmonary disease (COPD) management: six key clinical questions to improve disease

- treatment. *Expert Opin Pharmacother* 2021, 22(4):427-437.
- [6] Shi L, Zhu B, Xu M, Wang X: Selection of AECOPD-specific immunomodulatory biomarkers by integrating genomics and proteomics with clinical informatics. *Cell Biol Toxicol* 2018, 34(2):109-123.
- [7] Vogelmeier CF, Roman-Rodriguez M, Singh D, Han MK, Rodriguez-Roisin R, Ferguson GT: Goals of COPD treatment: Focus on symptoms and exacerbations. *Respir Med* 2020, 166:105938.
- [8] Maltais F, Decramer M, Casaburi R, Barreiro E, Burelle Y, Debigare R, Dekhuijzen PN, Franssen F, Gayan-Ramirez G, Gea J et al: An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: update on limb muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2014, 189(9):e15-62.
- [9] Jaitovich A, Barreiro E: Skeletal Muscle Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. What We Know and Can Do for Our Patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2018, 198(2):175-186.
- [10] Remels AH, Gosker HR, Langen RC, Schols AM: The mechanisms of cachexia underlying muscle dysfunction in COPD. *J Appl Physiol (1985)* 2013, 114(9):1253-1262.
- [11] Itoh M, Tsuji T, Nemoto K, Nakamura H, Aoshiba K: Undernutrition in patients with COPD and its treatment. *Nutrients* 2013, 5(4):1316-1335.
- [12] Celli BR: Muscle loss in COPD: An 'imploding' phenotype in need of therapies. *Respirology* 2021, 26(1):8-9.
- [13] Gea J, Barreiro E: Nutritional abnormalities and chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Tuberc Lung Dis* 2019, 23(5):531-532.
- [14] Bujak R, Struck-Lewicka W, Markuszewski MJ, Kaliszan R: Metabolomics for laboratory diagnostics. *J Pharm Biomed Anal* 2015, 113:108-120.
- [15] Jang C, Chen L, Rabinowitz JD: Metabolomics and Isotope Tracing. *Cell* 2018, 173(4):822-837.
- [16] Rinschen MM, Ivanisevic J, Giera M, Siuzdak G: Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019, 20(6):353-367.
- [17] Schrimpe-Rutledge AC, Codreanu SG, Sherrod SD, McLean JA: Untargeted Metabolomics Strategies-Challenges and Emerging Directions. *J Am Soc Mass Spectrom* 2016, 27(12):1897-1905.
- [18] D'Archivio M, Scazzocchio B, Vari R, Santangelo C, Giovannini C, Masella R: Recent Evidence on the Role of Dietary PUFAs in Cancer Development and Prevention. *Curr Med Chem* 2018, 25(16):1818-1836.
- [19] Marchioli R, Levantesi G: n-3 PUFAs in cardiovascular disease. *Int J Cardiol* 2013, 170(2 Suppl 1):S33-38.
- [20] Brown TJ, Brainard J, Song F, Wang X, Abdelhamid A, Hooper L, Group P: Omega-3, omega-6, and total dietary polyunsaturated fat for prevention and treatment of type 2 diabetes

- mellitus: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2019, 366:l4697.
- [21] Sato T, Kawasaki Y, Maekawa M, Takasaki S, Shimada S, Morozumi K, Sato M, Kawamorita N, Yamashita S, Mitsuzuka K et al: Accurate quantification of urinary metabolites for predictive models manifest clinicopathology of renal cell carcinoma. *Cancer Sci* 2020, 111(7):2570-2578.
- [22] Jasbi P, Mitchell NM, Shi X, Grys TE, Wei Y, Liu L, Lake DF, Gu H: Coccidioidomycosis Detection Using Targeted Plasma and Urine Metabolic Profiling. *J Proteome Res* 2019, 18(7):2791-2802.
- [23] Newgard CB: Metabolomics and Metabolic Diseases: Where Do We Stand? *Cell Metab* 2017, 25(1):43-56.
- [24] Calder PC: Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man. *Biochem Soc Trans* 2017, 45(5):1105-1115.
- [25] Russo GL: Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem Pharmacol* 2009, 77(6):937-946.
- [26] Jang IY, Jung HW, Park JH, Kim JH, Lee S, Lee E, Lee JY, Park SJ, Kim DA, Kim SJ et al: Lower Serum n-3 Fatty Acid Level in Older Adults with Sarcopenia. *Nutrients* 2020, 12(10).
- [27] Calder PC, Laviano A, Lonnqvist F, Muscaritoli M, Ohlander M, Schols A: Targeted medical nutrition for cachexia in chronic obstructive pulmonary disease: a randomized, controlled trial. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2018, 9(1):28-40.
- [28] Joffre C, Rey C, Laye S: N-3 Polyunsaturated Fatty Acids and the Resolution of Neuroinflammation. *Front Pharmacol* 2019, 10:1022.
- [29] 任杰, 杨泽华, 郑圣显, 胡昆: α -亚麻酸的体外抗炎作用机制研究. *云南大学学报(自然科学版)* 2009, 31:419-426.
- [30] So J, Wu D, Lichtenstein AH, Tai AK, Matthan NR, Maddipati KR, Lamon-Fava S: EPA and DHA differentially modulate monocyte inflammatory response in subjects with chronic inflammation in part via plasma specialized pro-resolving lipid mediators: A randomized, double-blind, crossover study. *Atherosclerosis* 2021, 316:90-98.
- [31] Innes JK, Calder PC: Omega-6 fatty acids and inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2018, 132:41-48.
- [32] Wang B, Wu L, Chen J, Dong L, Chen C, Wen Z, Hu J, Fleming I, Wang DW: Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther* 2021, 6(1):94.
- [33] Ghosh N, Choudhury P, Kaushik SR, Arya R, Nanda R, Bhattacharyya P, Roychowdhury S, Banerjee R, Chaudhury K: Metabolomic fingerprinting and systemic inflammatory profiling of asthma COPD overlap (ACO). *Respir Res* 2020, 21(1):126.
- [34] Martinez-Reyes I, Chandel NS: Mitochondrial TCA cycle metabolites control physiology and disease. *Nat Commun* 2020, 11(1):102.

- [35] Yquel RJ, Tessonneau F, Poirier M, Moinard J, Pillet O, Manier G: Peak anaerobic power in patients with COPD: gender related differences. *Eur J Appl Physiol* 2006, 97(3):307-315.
- [36] Eastwood PR, Van Der Touw TJ, Sturdy GA, Jenkins SC, Hillman DR: Anaerobic metabolism of inspiratory muscles in COPD. *Respirology* 2006, 11(1):32-40.
- [37] Palange P: Management of COPD: surgical options. *Respiration* 2001, 68(4):335-342.

个人简介

薛明汕在广州医科大学/广州呼吸健康研究院/呼吸疾病国家重点实验室以优异的成绩完成3年制临床内科专业学术硕士学位，按时完成周露茜导师安排的各项科研任务，勤劳肯干，态度认真。在导师的带领下完成多项研究成果，以第一作者身份共发表SCI 8篇(IF=22.595),共一作者1篇，第三及参与作者6篇。

积极投稿各大呼吸疾病相关的国内外会议，其中一次为会议发言，多次接纳为壁报和书面交流。

研究生阶段也非常荣幸获得了学校授予的“优秀研究生”和“优秀三年级研究生奖学金”奖项，还获得了“南山医学奖学金 一等奖”。

发表论文

第一作者身份发表SCI共计8篇，影响因子共22.595

共同第一作者SCI1篇，影响因子1.514

第三作者SCI4篇，影响因子共12.544

参与作者2篇，影响因子共6.420

综上所述共43.073

序号	论文题目	刊物名称	IF	作者顺序	发表时间
1	Evaluation of the Diagnostic Efficacies of Serological Markers KL-6, SP-A, SP-D, CCL2, and CXCL13 in Idiopathic Interstitial Pneumonia.	Respiration	3.332	第一	2019-10-30
2	Exploration of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids metabolites associated to nutritional levels in patients with severe stable chronic obstructive pulmonary disease.	Int J COPD	2.772	第一	2020-07-10
3	Predictive effects of IgA and IgG combination to assess pulmonary exudation progression in COVID-19 patients.	Journal of Medical Virology	2.021	第一	2020-08-17
4	Exploration and correlation analysis of changes in Krebs von den Lungen-6 levels in COVID-19 patients with different types in China.	Bioscience Trends	1.553	第一	2020-06-21
5	Heparin-binding protein levels correlated with aggravation and multi-organ damage in severe COVID-19	ERJ open	3.350	第一	2020-11-04
6	Krebs von den Lungen-6 and surfactant protein-A in interstitial pneumonia with autoimmune features	Medicine	1.552	第一	2020-04-24
7	Krebs Von den Lungen-6 as a predictive indicator for the risk of secondary pulmonary fibrosis and its reversibility in COVID-19 patients	IJBS	4.858	第一	已接纳
8	Metabolomic profiling of anaerobic and aerobic energy metabolic pathways in chronic obstructive pulmonary disease	Experimental Biological& Medicine	3.157	第一	已接纳

9	Sensitisation of severe asthma in different occupations: A multi centre study in China	Clin Respir J	1.514	共一	2020-12-15
10	Characteristics and roles of SARS-CoV-2 specific antibodies in patients with different severities of COVID-19.	Clinical and Experimental Immunology	3.532	第三	2020-06-24
11	Eicosanoids metabolized through LOX distinguish asthma-COPD overlap from COPD by metabolomics study.	Int J COPD	2.772	第三	2019-08-06
12	Increased MMP8 levels in atopic chronic obstructive pulmonary disease: a study testing multiple immune factors in atopic and non-atopic patients.	Int J COPD	2.772	第三	2020-07-30
13	Evaluation of the clinical performance of the HISCL- 5000 analyzer in the detection of Krebs von den Lungen- 6 antigen and its diagnostic value in interstitial lung disease.	Journal of Clinical Laboratory Analysis	1.540	第三	2020-02-10
14	Serum SP-A and KL-6 levels can predict the improvement and deterioration of patients with interstitial pneumonia with autoimmune features	BMC open	2.496	第五	2020-12-02
15	Analysis of serum polyunsaturated fatty acid metabolites in allergic bronchopulmonary aspergillosis	Respiratory Research	3.924	第五	2020-08-05

会议投稿

2020中华医学会全国变态反应年会 https://csallergy2020.medmeeting.org/cn 2020年7月1日, 9月11-13日太原	KL-6和SP-A在自身免疫相关性间质性肺疾病的评价研究	薛明汕	书面
	Evaluation of the diagnostic efficacies of serological markers KL-6, SP-A, SP-D, CCL2, and CXCL13 in idiopathic interstitial pneumonia	薛明汕	书面
2020 EAACI https://www.eaaci.org/eaaci-congresses/eaaci-2020 2020年1月13日,6月6-10日伦敦	Evaluation of the diagnostic efficacies of serological markers KL-6, SP-A, SP-D, CCL2, and CXCL13 in idiopathic interstitial pneumonia	薛明汕	壁报
	The role of N-6/N-3 ratio and N-9 metabolites in assessing chronic obstructive pulmonary diseases progression	薛明汕	壁报
2020 APSR http://www.apsresp.org/congress/2020.html 5月11日, 10月15-18日京都	Evaluation of the diagnostic efficacies of serological markers KL-6, SP-A, SP-D, CCL2, and CXCL13 in idiopathic interstitial pneumonia	薛明汕	壁报
	Krebs von den Lungen-6 and Surfactant protein-A in Interstitial Pneumonia with Autoimmune Features	薛明汕	壁报
2020 中华医学会呼吸病学年会 https://cts2020.medmeeting.org/10434?lang=cn 2020年6月30日, 10月23日杭州	重症COVID-19患者血清KL-6水平与疾病进展的相关性分析和诊断效能评价	薛明汕	壁报
	Exploration and correlation analysis of changes in KL-6 levels in COVID-19 patients with different types in China	薛明汕	壁报
	IgA抗体与重症COVID-19患者肺渗出水平的相关性分析及预测效能的评估	薛明汕	壁报
	KL-6和SP-A在自身免疫相关性间质性肺疾病的评价研究	薛明汕	壁报
	The Role of N-6/N-3 Ratio And N-9 Metabolites in Assessing Chronic Obstructive Pulmonary Diseases Progression	薛明汕	壁报

	ω-6和ω-3类代谢物在重度慢性阻塞性肺疾病患者营养水平中的探索和评估	薛明汕	壁报
	血清学标志物KL-6、SP-A、SP-D、CCL2和CXCL13对特发性间质性肺炎诊断价值的研究	薛明汕	壁报
2020 ATS https://conference.thoracic.org 2020年1月29日，5月15-20日费城	Exploration of N6 And N3 Metabolites In Evaluating Nutritional Levels Of Patients With Severe And Extremely Severe Chronic Obstructive Pulmonary Disease	薛明汕	壁报
	Evaluation of the Diagnostic Efficacies of Serological Markers KL-6, SP-A, SP-D, CCL2, and CXCL13 in Idiopathic Interstitial Pneumonia	薛明汕	壁报
	The Role Of N6 N3 Ratio And N9 Metabolites In Assessing Chronic Obstructive Pulmonary Diseases Progression	薛明汕	壁报
中华医学会第六届全国呼吸危重症会议	IgA抗体与重症COVID-19患者肺渗出水水平的相关性分析及预测效能的评估	薛明汕	发言

致 谢

首先感谢周露茜导师，感谢您给了我进入呼研院学习的宝贵机会，这里优渥的学术土壤让我快速从本科生蜕变成一名研究生。先进的科研环境和便利的交流平台给我提供了快捷获得国内外最新科研信息的途径，拓宽了视野。周老师在我遇到困难时给予我莫大的支持，及时给出建设性意见助我度过难关。她也及时布置了多项科研任务供我学习和历练，让我快速成长，我真心地感谢周老师对我的悉心栽培。

感谢所有帮助过我的老师和师兄、师姐、师弟、师妹们，希望在未来的科研路上继续合作，共同创造更多的成果！同时也感谢评阅和参加答辩的各位老师！