

新生儿呼吸窘迫综合征血代谢分析的初步研究

雷辉¹ 陈夏玲²

(1 盐田区人民医院儿科 2 罗湖区人民医院)

摘要:目的:分析新生儿呼吸窘迫综合征血代谢的结果。方法:33例出生胎龄27周至35周,确诊存在新生儿呼吸窘迫综合征的为实验组;另选33例出生胎龄27周至35周末发现新生儿呼吸窘迫综合征对照组。留取研究对象出生24小时足跟血标本,应用气相色谱-质谱和液相色谱-串联质谱分析,运用正交偏最小二乘判别分析法(OPLS-DA)进行数据分析,获得不同权重参数,再运用统计学方法分析血代谢结果。结果:血液代谢权重位于前十名分别为亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸、谷氨酸、鸟氨酸、甘氨酸、精氨酸、天门冬氨酸、色氨酸和赖氨酸。实验组患儿血谷氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸和鸟氨酸明显升高,与对照组比较差异具有统计学意义。

关键词:气相色谱-质谱;新生儿呼吸窘迫综合征;血代谢

A preliminary study on blood metabolism analysis of neonatal respiratory distress syndrome

【Abstract】 Objective: To analyze the blood metabolism of neonatal respiratory distress syndrome. Methods: 33 patients with neonatal respiratory distress syndrome (RDS) were selected as the experimental group. Thirty-three patients without NEONATAL respiratory distress syndrome at 27 to 35 weeks of gestational age were selected as control. The heel blood samples were collected 24 hours after birth, analyzed by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and analyzed by orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) to obtain different weight parameters. Then, statistical methods were used to analyze blood metabolism results. Results: valine, threonine, glutamic acid, ornithine, glycine, arginine, aspartic acid, tryptophan and lysine were the top ten in blood metabolism weight. The levels of glutamic acid, aspartic acid, glycine and ornithine in the experimental group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant.

【 keyword】 Gas chromatography-mass spectrometry, Neonatal respiratory distress syndrome, Blood metabolism

新生儿急性呼吸窘迫综合征(NARDS),既往称之为肺透明膜病,常见于早产儿,因早产儿肺部未发育成熟,进一步引起肺泡表面活性物质生成不足,导致肺泡进行性萎陷、塌陷,生后数小时内出现呼吸窘迫和缺氧等临床症状和体征。其临床表现为:顽固的血氧饱和低,吸气困难,三凹征阳性,胸片和CT提示:双肺弥漫性透光度下降,炎性渗出伴肺顺应性下降,或引起白肺。胎龄越小,发病率越高,体重越轻,病死率越高^[1]。

1 研究对象

1.1 纳入标准

(1)选取2014年7月至2019年7月在我院出生的妊娠足7周-不满35周出生的新生儿并出现呼吸窘迫为研究对象,出生24小时留取足跟血标本进行代谢产物测定。依据胸片结果及临床表现,随机选取33例新生儿呼吸窘迫综合征的早产儿为实验组,33例未出现新生儿呼吸窘迫综合征的早产儿为对照组。

(2)所有早产儿均排除先天畸形和遗传代谢病。

(3)本研究获得医院伦理委员会的批准,研究对象选择获得受试者家属的知情同意。

1.2 诊断标准

新生儿呼吸窘迫综合征,既往称之为肺透明膜病,常见于早产儿,因早产儿肺部未发育成熟,进一步引起肺泡表面活性物质生成不足,导致肺泡进行性萎陷、塌陷的疾病。

1.3 剔除标准

存在如下情形之一者,剔除研究组。

(1)患儿入院因家庭经济或其他原因拒绝行血代谢检查;

(2)住院期间患儿出现严重疾病:先天性心脏、基因、代谢等疾病,或者出现严重的感染死亡等。

1.4 资料收集

统计实验组(33例)和对照组(33例)早产儿的孕母年龄,胎龄、住院天数等;出生时患儿体格发育指标如出生体重;记录患儿出生时血常规等。

患儿出生24小时留取足跟血标本;记录早产儿住院号及姓名,将足跟血3滴浸透于专用血液收集的滤纸片上,收集患儿尿液3毫升置于尿管中及先置于-10℃冰箱里保存,检测血代谢。

1.5 质量控制、数据处理

本次研究的血代谢数据运用采用OPLS-DA模型,分析各代谢产物的不同权重参数。血液数据为所检测的数值,用SPSS19.0统计

软件进行分析。患儿临床计数资料以构成比、卡方、似然比的形式表示,采用卡方检验;符合非正态分布的计量数据则采用中位数、秩均值、秩和来表示,组间区别以平均秩次表现,采用秩和检验;符合正态分布的计量资料比较采用均值、均值差及方差表示,进行t检验,所有的检验水准为 $\alpha=0.05$, $p<0.05$ 表示差异有统计学意义^[2]。

2 结果

2.1 实验组和对照组的一般资料根据住院期间患儿胸片结果和临床表现,2014—2019年共诊断新生儿呼吸窘迫综合征患儿35例,结合本研究入选标准和剔除标准,剔除2例,共33例发生新生儿呼吸窘迫综合征的早产儿为实验组,根据胎龄匹配33例未发生呼吸窘迫的早产儿为对照组。

基本临床资料和分组见表1。

2.2 两组早产儿实验组与对照组体格发育及临床指标比较

实验组及对照组临床资料比较提示:患儿在出生时体重、孕周、入院时年龄,出生时白细胞总值等方面差异无统计学意义,在患儿住院天数 $p<0.05$ 。差异有统计学意义,住院天数实验组秩均值27,对照组秩均值15,实验组住院天数明显大于对照组(见表1)。

表1 患儿基本信息的秩和检验

项目	秩均值	秩和	$P<0.05$
体重(g)	18.32	604.56	0.189
	24.54	809.82	
孕周(周)	22.3	669	0.727
	22.5	742	
住院天数	27.4	904.2	0.017
	15.86	475.8	
孕母年龄(岁)	22.3	735	0.723
	21.65	714	
白细胞	20.45	674	0.870
	22.23	733	

2.3 采用正交偏最小二乘判别分析法(OPLS-DA)对血代谢全谱进行分析

1.血代谢物S-Plot分析,是对所有变量在OPLS-DA模型预测水平协方差(x轴)和相关性(Y轴)的呈现,图中越偏向两极的物质,具有较大的协方差和相关性,即为异常代谢物。位于S-Plot两极的共有7个物质(图1,红色三角标记),其中6个偏负极方向,分别为

谷氨酸、鸟氨酸、甘氨酸、亮氨酸、天门冬氨酸及苏氨酸，表明这些代谢物浓度在未发生 ARDS 患儿低，其中谷氨酸偏正极最远距离，说明其变化幅度及相关性较大^[3]；同理，缬氨酸偏正极方向呈正相关变化，缬氨酸浓度在对照组较高。（见图 1）。

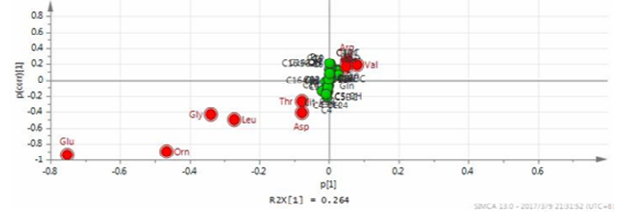


图 1. 血代谢物 S-Plot 分析图

2. 血代谢模式识别差异物质权重，分析变量重要性得分图是使用 OPLS. DA 模型进行有监督性分析方法中评价变量贡献的最常用方法，下述图中可知谷氨酸、甘氨酸、缬氨酸及天门冬氨酸(图 2)，其中谷氨酸具有最高的权重，表明其在模式识别过程贡献率最大见（图 2）。

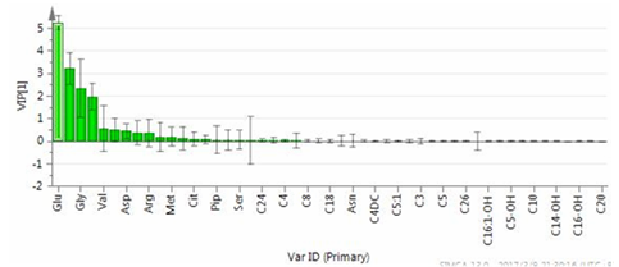


图 2.血代谢物权重图

3. OPLS. DA 模型分析的血代谢前十四名权重较大的代谢物质分别为谷氨酸、鸟氨酸、甘氨酸、亮氨酸、缬氨酸、苏氨酸、天门冬氨酸、色氨酸、精氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、谷氨酰胺、瓜氨酸、同型半胱氨酸见（表 2）。

表 2. OPLS. DA 模型分析的血代谢前十四名物质

血代谢权重较大的前十四名质	权重值
Glu	5.32146
Orn	3.32653
Gly	2.21350
Leu	1.99753
Val	1.45368
Thr	1.524570
Asp	1.457328
Trp	1.379074
Arg	1.324678
lys	1.213463
Met	1.202343
Gln	1.1432685
Cit	0.1232453
Hcy	0.0786532

2.4 新生儿呼吸窘迫患儿与非呼吸窘迫患儿血代谢分析。

根据血代谢权重前十位做秩和检验分析：33 例发生实验组以及 33 例对照组血中代谢产物中数据：（1）符合正态分布的有谷氨酸、天门冬氨酸、色氨酸、精氨酸我们采用两个独立样本的 T 检验，数据之间的差距采取均值表示，1.谷氨酸：t 值为 12.812，两组数据之间的 T 检验 P 为 0.00 差异具有统计学意义，实验组均值高于对照组，则新生儿呼吸窘迫综合征患儿的谷氨酸浓度较高。2.亮氨酸：t 值为 1.583，两组数据之间的 T 检验 P 为 0.231 差异无统计学意义。3.天门冬氨酸：t 值为 2.241，两组数据之间的 T 检验 P 为 0.031 差异具有统计学意义，实验组均值高于对照组，则实验组患儿的天门冬氨酸浓度较高。4.色氨酸：t 值为-1.122，两组数据之间的 T 检验

P 为 0.310 差异无统计学意义。5.精氨酸：实验组与对照组差值为 -1.620，两组数据之间的 T 检验 P 为 0.131 差异无统计学意义（见表 3）。（2）不符合正态分布，故结果使用组间区别以平均秩次表现，且采用两独立样本 Wilcoxon 秩和检验进行统计分析。从表 4 可见，1.甘氨酸：实验组患儿甘氨酸平均秩次为 26.31，对照组患儿甘氨酸平均秩次为 17.22，Z 为-2.311，p 为 0.013，两者之间差异有统计学意义，实验组甘氨酸水平大于对照组。2.鸟氨酸：实验组患儿鸟氨酸平均秩次为 32.52，实验组患儿甘氨酸平均秩次为 11.52，Z 为 -5.28，p 为 0.000，两者之间差异有统计学意义，实验组鸟氨酸水平大于对照组。3.苏氨酸：实验组患儿苏氨酸平均秩次为 22.82，对照组患儿苏氨酸平均秩次为 20.51，Z 为-1.07，p 为 0.270，两者之间差异无统计学意义。4. 缬氨酸：实验组患儿缬氨酸平均秩次为 18.10，对照组患儿缬氨酸平均秩次为 23.12，Z 为-1.831，p 为 0.069，两者之间差异无统计学意义。5. 组氨酸：实验组患儿组氨酸平均秩次为 23.13，对照组患儿组氨酸平均秩次为 21.22，Z 为-0.367，p 为 0.410，两者之间差异无统计学意义。

表 3 两组正态分布数据谷、亮、天门冬、色、精氨酸的数据分析

项目	组别	均值	t 值	p
谷氨酸	实验组	372.7 ± 61	12.812	0.000
	对照组	169.3 ± 39		
亮氨酸	实验组	215.4 ± 48	1.583	0.231
	对照组	208.2 ± 43		
天门冬氨酸	实验组	25.1 ± 6.7	2.241	0.031
	对照组	21.3 ± 4.9		
色氨酸	实验组	54.2 ± 21	-1.122	0.310
	对照组	58.2 ± 16		
精氨酸	实验组	12.8 ± 7	-1.620	0.131
	对照组	15.7 ± 8		

表 4 不符合正态分布的血液代谢数据的秩和检验

项目	组别	秩均值	秩和	P<0.05
甘氨酸	实验组	26.31	868	0.013
	对照组	17.22	568	
鸟氨酸	实验组	32.52	1073	0.000
	对照组	11.52	380	
苏氨酸	实验组	22.82	753	0.270
	对照组	20.51	676	
缬氨酸	实验组	18.10	597	0.069
	对照组	23.12	762	
组氨酸	实验组	23.13	763	0.410
	对照组	21.22	700	

3.讨论

新生儿呼吸窘迫综合征血代谢中，谷氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸和鸟氨酸明显升高。

其中谷氨酸为颅内神经递质，其化学名称为 α-氨基戊二酸。如果谷氨酸过量，长期刺激谷氨酸受体，会引起兴奋性神经毒性，可导致神经细胞的凋亡。因此适宜的谷氨酸浓度，合成、分解、摄取及重吸收是动态平衡的过程.维持正常的神经活动。当新生儿出现呼吸窘迫时，过量的谷氨酸可导致机体出现兴奋等表现，引起神经系统损害。因此应当及时治疗新生儿呼吸窘迫^[4]。

尿素循环是脊椎动物体内排氨的主要方式，实验组与对照组前 11 名 VIP 物质，参与尿素循环的有鸟氨酸、天门氨酸、瓜氨酸、精氨酸。其中存在统计学差异的就有鸟氨酸与天门冬氨酸。因此当新生儿呼吸窘迫时间过久时可能影响尿素循环^[5-6]。

（下转第 35 页）

(上接第 28 页)

谷氨酸、甘氨酸以及半胱氨酸组成谷胱甘肽,其含有活性三肽,在肝脏或者其他组织,其具有还原性的特性,因此可抗氧化和解毒的作用,而本次实验血代谢中甘氨酸及谷氨酸实验组含量较高,其有可能为谷胱甘肽合成酶的含量及活性低,导致甘氨酸及谷氨酸合成谷胱甘肽减少而引起下游合成受阻,可导致上有的谷氨酸、甘氨酸及半胱氨酸升高^[7]。最近国内学者研究表明甘氨酸能够拮抗肝、肾、小肠、神经系统和骨骼肌的缺血、再灌注损伤^[8]。除此之外,甘氨酸对硫代乙酰胺所致急性肝损伤的具有保护作用^[9]。因此当出现新生儿呼吸窘迫时,还原性谷胱甘肽合成减少,也会导致相应的机体损伤。

参考文献

- [1]安玉琴 张彩艳 李倩倩. NIPPV 模式和 NCPAP 模式对新生儿呼吸窘迫综合征治疗效果[J]. 当代临床医刊. 2022 年 6 月第 3 期第 35 卷.
- [2]蔡尧,雷辉,郝虎,杨秋萍,李菲,古霞,李思涛. 早产儿视网膜病变患儿出生尿代谢产物差异分析的初步研究[J]. 中国儿童保健杂志 2018 年 09 月第 26 卷第 9 期.
- [3]吴鹰军,吴时光,李思涛,等.应用串联质谱技术区别早产儿与足月儿血代谢组学生物标志物[J].中华实用儿科临床杂志, 2016, 9

(9):1325-1328.

- [4]李春艳,赵洪庆,杨蕙,王叶情,刘灿,孟盼,王宇红. 谷氨酸兴奋毒性及其调节剂的研究进展 [J]. 中国药理学通报. 2022 May; 38(5): 645 ~ 9.

[5]Burgard P, Kölker S, Haeghe G, et al. Neonatal mortality and outcome at the end of the first year of life in early onset urea cycle disorders—review and meta-analysis of observational studies published over more than 35 years[J]. J Inher Metab Dis, 2016, 39(2): 219-229.

[6]Raina R, Bedoyan JK, Konecki UL, et al. Consensus guidelines for management of hyperammonaemia in paediatric patients receiving continuous kidney replacement therapy[J]. Nat Rev Nephrol, 2020, 16 (8): 471-482.

[7]张成国 孙国祥 杨晓 李敏 杨修亮. 谷胱甘肽抑制氧化应激反应进展[J]. 科技创新与应用. 2021,(11).

[8]Eulenburg V, Armsen W, Betz H, et al. Glycine transporters: essential regulators of neuro transmission. Trends Biochem Sci, 2005, 30(6): 325-333.

[9]张巍,员克明,韩德五. 甘氨酸对硫代乙酰胺所致急性肝损伤的保护作用[J]. 山西医科大学学报(J Shanxi Med Univ), 2003, 6, 34(3): 210-211.