胎儿生长受限的氨基酸代谢学研究

刘倩[1]　饶腾子[1]　沈文[2]　谢讯杰[3]　赵馨[1]　朱冬生[4*]

(1.广东省妇幼保健院 医学遗传中心,广东 广州　510010;2. 广东省妇幼保健院 生殖中心,广东 广州　510010;3. 广东省妇幼保健院 儿童遗传代谢与内分泌科,广东 广州　510010;4. 广东省妇幼保健院 儿童保健科,广东 广州　510010)

【摘要】 目的 探讨宫内生长受限胎儿体内氨基酸在胎儿生长发育过程中意义。**方法** 采取病例对照研究方法,分析广东省妇幼保健院 2014 年 12 月至 2018 年 12 月进行脐血产前诊断的胎儿 86 例,其中病例组 30 例,对照组 56 例。采用高效液相色谱-串联质谱检测所有胎儿脐血干血片中 11 种氨基酸浓度,采用 t 检验或秩和检验方法比较 2 组氨基酸浓度差异。**结果** 生长受限组各氨基酸浓度均低于对照组,其中 Phe、Tyr、Pro 等氨基酸浓度两组间差异有统计学意义。**结论** 生长受限胎儿的 Phe、Tyr、Pro 等氨基酸在疾病的发生发展中发挥重要作用。

【关键词】 氨基酸;胎儿宫内生长受限

【中图分类号】 R714.53　　**【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To explore the significance of amino acids in intrauterine growth-limiting fetuses during fetal growth and development. **Method** We conducted case-control study to analyze 86 cases of prenatal diagnosis of umbilical cord blood from December, 2014 to December, 2018, including 30 cases in the case group and 56 cases in the control group. The concentration of 11 amino acids in all fetal cord blood dried blood samples was detected by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The difference of amino acid concentrations between the two groups was compared by t test or rank sum test. **Results** The concentration of each amino acid in the growth-restricted group was lower than that in the control group. The difference of amino acid concentrations such as Phe, Tyr and Pro was statistically significant. **Conclusions** Growth-limited amino acids such as taier de Phe, Tyr, and Pro play important roles in the occurrence and development of diseases.

【Key words】 Amino acids; Fetal growth restriction

胎儿生长受限(fetal growth restriction,FGR)是引起不良妊娠结局的常见妊娠合并症之一,我国平均发病率约为 6.39%[1],是导致围产儿患病和病死率的重要原因,还可能带来远期的不良结局[2]。20 世纪 90 年代,外国学者 Baker[3] 提出“成人病的胎儿起源”假说,即 FGR 与成年后高血压、冠心病、糖尿病等代谢综合征的发生密切相关,这也越来越引起人们的关注。然而,FGR 的病理生理机制尚不明确,病因复杂,缺乏有效的预防以及针对性治疗手段。

人类 FGR 营养学研究资料有限,氨基酸的意义越来越受重视。氨基酸作为糖、蛋白质和脂肪三大营养物质代谢的中心环节,在机体营养代谢过程中发挥重要作用,且在一定程度上反映了机体的营养代谢状态,在胚胎生长发育过程中起重要作用,其在胎儿期的作用可能与 FGR 相关[4]。本研究通过分析 FGR 中晚孕期脐血中氨基酸浓度,探讨氨基酸在胎儿宫内生长发育中的意义。

DOI:10.13470/j.cnki.cjpd.2019.04.008
基金项目:广东省医学科研基金(201611423161532)
通信作者:朱冬生,E-mail:857518@163.com

1 材料和方法

1.1 基本资料 研究选取 2014 年 12 月至 2018 年 12 月例因 FGR 在广东省妇幼保健院进行脐静脉穿刺产前诊断的单胎妊娠孕妇,随机选取同时期在因 2 个以上超声软指标阳性本院进行脐静脉穿刺术且孕妇年龄及胎儿孕龄相匹配的孕妇作为对照组。流程图如图 1 所示。

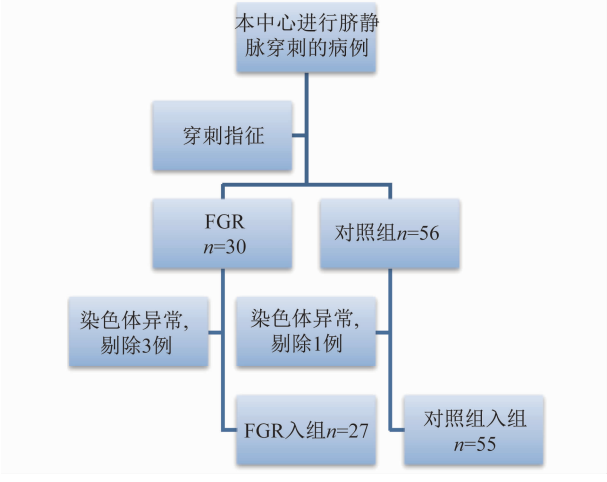

图 1 研究流程图

美国妇产科医师协会最新指南[5]提出,FGR 是指胎儿超声估测体重或腹围小于同胎龄儿低 10 百分位数,小于胎龄儿(small for gestation age,SGA)是指出生体重低于同胎龄儿体重第 10 个百分位数的新生儿。研究组入组标准:因 FGR 在本院进行脐静脉穿刺产前诊断的单胎妊娠孕妇,新生儿出生体重小于同胎龄儿第 10 百分位数。对照组入组标准:孕妇年龄及胎儿孕龄与病例组相匹配,因"2 个以上超声软指标阳性"进行脐静脉穿刺产前诊断的孕妇。

1.2 实验室检测 所有入组胎儿按常规脐静脉穿刺术进行脐血取样,用滤纸片采集卡采集直径 8mm 以上的 3 个血斑,室温干燥后置于密封袋中,−20℃保存以备检测。采用 LD20-API3200 高效液相色谱-串联质谱(HLPC-MS)检测 2 组胎儿干血片中 11 种氨基酸浓度,所检测氨基酸列表如表 1 所示。

1.3 统计分析 采用 SPSS 21.0 统计软件(SPSS 21,IBM,纽约)对所有数据进行统计分析,本研究所得检测结果为计量资料,用 $\bar{x}\pm s$ 进行统计描述。首先采用 Kolmogorov-Smirnov 法对资料进行正态性检验(检验水准 $\alpha=0.10$),若氨基酸浓度呈正态分布,且方差齐(检验水准 $\alpha=0.10$),采用 t 检验比较两组间氨基酸浓度差异(检验水准 $\alpha=0.05$);若氨基酸弄得呈非正态分布,采用非参数检验分析两组间氨基酸浓度差异(检验水准 $\alpha=0.05$)。

表 1 所检测氨基酸列表

英文缩写	英文全称	中文全称
Ala	alanine	丙氨酸
Met	methionine	甲硫氨酸
Phe	phenylalanine	苯丙氨酸
Tyr	tyrosine	酪氨酸
Leu	leucine	亮氨酸
Val	valine	缬氨酸
Arg	arginine	精氨酸
Cit	citrulline	瓜氨酸
Gly	glycine	甘氨酸
Orn	ornithine	鸟氨酸
Pro	proline	脯氨酸

2 结果

所有孕妇和胎儿的基本临床特点如表 2 所示,除两组间新生儿出生体重间差异有统计学意义外,两组病例的孕妇年龄、进行脐血取样时孕龄、新生儿出生孕龄等的组间差异均无统计学意义。

表 2 孕妇和胎儿的临床特点

项目	FGR 组 (n=27)	对照组 (n=55)	P
孕妇年龄(岁,$\bar{x}\pm s$)	29.08±6.52	29.36±4.89	0.733
取样孕龄(周,$\bar{x}\pm s$)	30.50±4.46	30.57±2.47	0.085
出生孕龄(周,$\bar{x}\pm s$)	38.67±1.73	39.00±1.47	0.599
剖宫产率(%)	45.5	50.0	0.851
新生儿出生体重(kg,$\bar{x}\pm s$)	2.65±0.37	3.24±0.46	0.001

各组胎儿氨基酸浓度情况如表 3 所示。FGR 组及对照组 Phe、Tyr、Val、Orn、Pro 等氨基酸浓度正态性检验 P 值均大于 0.1,采用 t 检验比较两组间氨基酸浓度差异;其余氨基酸均来自非正态总体,采用秩和检验比较两组间氨基酸浓度差异。按 $\alpha=0.05$ 检验水准,FGR 组 Phe、Tyr、Pro 等氨基酸浓度低于对照组,差异有统计学意义。

表 3　各组新生儿的氨基酸浓度比较(μmol/L)

项目	FGR 组(n=27)	对照组(n=55)	P
Ala	373.94(343.71～403.10)	385.07(364.36～442.34)	0.341
Met	23.38(22.16～27.53)	27.81(25.07～29.58)	0.140
Phe*	66.43±8.34	69.76±16.35	0.031
Tyr*	62.54±12.18	70.58±18.33	0.021
Leu	155.12(153.64～189.41)	179.10(170.88～199.80)	0.148
Val*	193.233±40.25	203.35±54.31	0.136
Arg	6.30(9.95～24.71)	18.84(16.59～27.82)	0.184
Cit	12.05(10.93～12.97)	12.09(11.86～13.76)	0.307
Gly	302.16(289.11～402.96)	302.16(277.92～353.4)	0.399
Orn*	83.23±22.35	88.95±31.45	0.221
Pro*	133.51±20.49	149.63±40.40	0.006

注：* 两组氨基酸浓度的正态性检验 P 值均大于 0.1

3　讨论

首先，本研究发现，FGR 组各氨基酸浓度均低于对照组，其中 Phe、Tyr、Pro 等氨基酸浓度两组间差异有统计学意义，其余氨基酸浓度两组间差异无统计学意义。氨基酸低浓度状态可能与下游蛋白合成减少相关。Badaloo 等[6]研究发现氨基酸 Tyr 和 Phe 可促进营养不良儿童的生长，实现出生后快速追赶生长组早产儿所喝母乳中 Tyr 浓度高于生长缓慢者早产儿所喝母乳中 Tyr 浓度[7]。Tyr 和 Phe 均属于芳香族氨基酸，研究显示营养不良的儿童服用芳香族氨基酸可促进机体蛋白质的合成从而促进低营养状态患儿的生长。Pro 参与肝糖原的合成代谢，在机体葡萄糖转运过程中起重要作用。动物研究发现，胎盘和胎儿的生长减缓与胎盘 Pro 转运有关[8]，且与平均出生体重组相比，胎猪 FGR 组羊水中和脐血中 Pro 浓度低于对照组[8]。本研究中，FGR 组胎儿 Tyr、Pro 和 Phe 氨基酸浓度均低于对照组，推测在人类胚胎的生长发育中，这些氨基酸至关重要，其低浓度状态可能与其宫内生长发育迟缓有关，具体作用机制尚需进一步研究。

其次，与我们以往进行的新生儿氨基酸浓度相比[9]，除了 Tyr、Cit、Gly 和 Orn 胎儿期浓度略低于新生儿期外，FGR 组及对照组其余氨基酸胎儿期浓度均高于新生儿期。Picot 等[10]研究发现 Cit 浓度与在营养物质吸收利用过程中起主要吸收作用的小肠长度及吸收功能呈正相关。国内外学者[11,12]动物研究发现 Gly 能促进新生仔猪小肠绒毛发育及其吸收功能的完善。有学者通过鸡胚动物模型研究发现 Orn 可促进小肠隐窝细胞的增生[13]，口服 Orn 可增强胃肠道的吸收功能[14]。隐窝和绒毛共同构成了小肠上皮，一起发挥着营养吸收作用。

从以上研究可看出，本研究所发现的胎儿期浓度低于新生儿期浓度的 4 种氨基酸均与胃肠道吸收功能相关，推测出现这种现象的原因可能是胎儿期虽未摄入食物，但在吞咽羊水的过程中，胃肠道已开始发挥吸收功能，故在氨基酸的跨胎盘主动转运情况下，与小肠吸收功能相关的 4 种氨基酸胎儿期浓度仍低于新生儿期。营养物质的胎盘转运在胎儿生长发育中发挥重要作用，氨基酸的胎盘转运是胎儿生长发育所必须的一个重要因素[15]，氨基酸转运可限制胎儿生长发育[16]。氨基酸的胎盘转运方式是通过转运载体的逆浓度梯度的主动转运，与转运蛋白的量、血流量、机体代谢状态等因素相关[17]。本研究中所发现的胎儿期其余氨基酸的高浓度状态则缘于主动转运的逆浓度梯度转运方式，将更多的氨基酸转运至胎儿体内，以满足胎儿的生长发育。

综上所述，尽管 FGR 缺乏有效治疗方案，且不良妊娠结局风险增加。本研究发现 FGR 组胎儿血液中 Phe、Tyr、Pro 等氨基酸浓度低于对照组，其在疾病的发生发展中可能发挥重要作用，进一步的病理生理相关研究以及孕妇-胎儿血液学研究将为我

们提供更多的信息。

参 考 文 献

[1] 闻良珍，熊锦文. 胎儿宫内发育迟缓的病理生理变化[J]. 中国实用妇科与产科杂志，2002，1:4-5.

[2] 中华医学会围产医学分会胎儿医学学组，中华医学会妇产科学分会产科学组. 胎儿生长受限专家共识(2019 版)[J]. 中华围产医学杂志，2019,22(6):361-380.

[3] Barker DJ，Gluckman PD，Robinson JS. Conference report：fetal origins of adult disease--report of the First International Study Group，Sydney，29-30 October 1994[J]. Placenta，1995,16(3):317-320.

[4] Lofthouse EM，Perazzolo S，Brooks S，et al. Phenylalanine transfer across the isolated perfused human placenta：an experimental and modeling investigation[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol，2016,310(9):R828-R836.

[5] 赵建林，漆洪波. 美国妇产科医师协会“胎儿生长受限指南(2019)”解读[J]. 中国实用妇科与产科杂志，2019,35(10):1123-1125.

[6] Badaloo A，Hsu JWC，Taylor-Bryan C，et al. Tyrosine requirement during the rapid catch-up growth phase of recovery from severe childhood undernutrition[J]. Br J Nutr，2010，104(8)：1174-1180.

[7] Alexandre-Gouabau M，Moyon T，David-Sochard A，et al. Comprehensive Preterm Breast Milk Metabotype Associated with Optimal Infant Early Growth Pattern[J]. Nutrients，2019,11(3):528.

[8] Wu G，Bazer FW，Datta S，et al. Proline metabolism in the conceptus：implications for fetal growth and development[J]. Amino Acids，2008,35(4):691-702.

[9] Liu Q，Wu J，Shen W，et al. Analysis of amino acids and acyl carnitine profiles in low birth weight，preterm，and small for gestational age neonates[J]. J Matern Fetal Neonatal Med，2017，30(22):1-8.

[10] Picot D，Garin L，Trivin F，et al. Plasma citrulline is a marker of absorptive small bowel length in patients with transient enterostomy and acute intestinal failure[J]. Clin Nutr，2010,29(2):235-242.

[11] 王薇薇. 甘氨酸对仔猪生长及肠道功能影响的研究[D]. 北京:中国农业大学，2014.

[12] Yue M，Fang SL，Zhuo Z，et al. Zinc glycine chelate absorption characteristics in Sprague Dawley rat[J]. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)，2015,99(3):457-464.

[13] 师昆景，谭荣炳，吴灵英. 胚胎注射 L-精氨酸和 L-鸟氨酸对肉仔鸡早期肠道发育的影响[J]. 中国畜牧杂志，2009,45(01):24-28.

[14] Nakato J，Ho YY，Omae R，et al. l-Ornithine and l-lysine stimulate gastrointestinal motility via transient receptor potential vanilloid 1[J]. Mol Nutr Food Res，2017,61(11):1700230.

[15] Eppolito AK，Bachus SE，McDonald CG，et al. Late emerging effects of prenatal and early postnatal nicotine exposure on the cholinergic system and anxiety-like behavior[J]. Neurotoxicol Teratol，2010,32(3):336-345.

[16] Philipps AF，Holzman IR，Teng C，et al. Tissue concentrations of free amino acids in term human placentas[J]. Am J Obstet Gynecol，1978,131(8):881-887.

[17] Lewis RM，Brooks S，Crocker IP，et al. Review：Modelling placental amino acid transfer--from transporters to placental function[J]. Placenta，2013,34 Suppl:S46-S51.

(收稿日期:2019-10-31)

编辑:宋文颖