

急性呼吸窘迫综合征的代谢组学研究进展

段晓媛 许巍

中国医科大学附属盛京医院儿科重症监护病房, 辽宁沈阳 110004

通信作者: 许巍, Email: tomxu.123@163.com

【摘要】 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是一种临床上和生物学上的异质性临床综合征。考虑到由于病因、临床和分子表现形式的广泛差异而导致的 ARDS 异质性,目前的科学共识是, ARDS 不是一种单一的疾病,而是一系列需要进一步研究以进行适当分类、识别和鉴定的病理生理过程。代谢组学是一个迅速发展的系统生物学领域,在作为跨学科平台的科学和医学领域取得了许多突破。代谢组学为 ARDS 诊断中生物标志物的发现和分析提供了重要的机遇,有望揭示 ARDS 背后的生物学过程,并在解决 ARDS 异质性和严重程度评估方面展现出巨大潜力。为此,本文对有关 ARDS 代谢组学的研究进行了阐述,并讨论了 ARDS 代谢组学研究的进展和遇到的主要障碍。

【关键词】 急性呼吸窘迫综合征; 急性肺损伤; 代谢组学; 生物标志物; 异质性

基金项目: 国家自然科学基金(81771621); 辽宁省重点研发指导计划项目(2019JH8/10300023)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210603-00823

Research progress on metabolomics of acute respiratory distress syndrome

Duan Xiaoyuan, Xu Wei

Department of Pediatric Intensive Care Unit, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning, China

Corresponding author: Xu Wei, Email: tomxu.123@163.com

【Abstract】 Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a clinically and biologically heterogeneous disease. Given the heterogeneity of ARDS due to the wide range of etiological, clinical, and molecular manifestations, the current scientific consensus is that ARDS is not a single disease, but rather a set of diseases that require further research to properly classify and identify. Metabonomics, as a rapidly developing field of systems biology, has made many breakthroughs in science and medicine as an interdisciplinary platform. Metabonomics provides an important opportunity for the discovery and analysis of biomarkers in the diagnosis of ARDS, which is expected to reveal the biological process behind ARDS and show great potential in solving the heterogeneity and severity assessment of ARDS. This review focuses on the literature of ARDS metabonomics and summarizes the progress of ARDS metabonomics research and the main obstacles.

【Key words】 Acute respiratory distress syndrome; Acute lung injury; Metabonomics; Biomarker; Heterogeneity

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81771621); Liaoning Provincial Key Research and Development Guidance Planning Program (2019JH8/10300023)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210603-00823

急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是临床常见的危重症之一,具有很强的异质性。近年来,研究者致力于实现 ARDS 的个体化与精准化治疗,然而目前临床上尚无诊断 ARDS 敏感度高的生物标志物,在临床分型和严重程度评估等方面均面临着严峻的挑战。代谢组学作为快速发展的系统生物学的新兴领域,为早期识别和诊治 ARDS 提供了巨大潜力。现对 ARDS 代谢组学的研究进展综述如下。

1 ARDS 面临的挑战

ARDS 是由感染和创伤等多种疾病引起的严重的临床综合征,主要表现为肺顺应性降低、顽固性低氧血症和胸部 X 线显示双肺弥漫性浸润影,后期多并发多器官功能衰竭,以急性弥漫性肺泡损伤、肺水肿形成、中性粒细胞源性炎症和表面活性剂功能障碍为特征^[1]。ARDS 在世界范围内被

广泛认为是一个具有挑战性的重要临床问题,具有很高的发病率和病死率。在过去 50 年里,基于 ARDS 定义的不断更新和完善,对其流行病学、病理生理学和发病机制更深入的了解,以及机械通气策略如俯卧位通气^[2-3]和液体治疗策略的改进,ARDS 患者生存率显著提高,但严重 ARDS 的病死率仍超过 40%^[4-6]。目前 ARDS 诊断是基于符合柏林定义的发病时间、水肿来源、胸片表现和低氧血症等^[7],柏林定义解决了美国-欧洲共识会议(American-European Consensus Conference, AECC)定义的局限性,即便如此,一些标准的不可靠性仍可能导致临床医生的认知不足^[8]。一项在 50 个国家重症监护病房(intensive care unit, ICU)进行的国际性、多中心、前瞻性队列研究表明,临床医生对 ARDS 的识别率很低,轻度 ARDS 为 51%,重度 ARDS 仅 79%^[9]。这证明了 ARDS 在重症患者中仍然很常见,并且尚未被充分认识和治

疗。在临床上仍缺乏关于 ARDS 的可靠诊断测试, ARDS 的早期识别和优化管理对于改善预后至关重要。

2 代谢组学在 ARDS 研究中的优势

代谢组学是利用高通量技术对生物样本中的所有小分子代谢物进行定性和定量评估的一门学科^[10],其主要技术手段包括核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)、质谱(mass spectrum, MS)、气相色谱(gas chromatogram, GC)及液相色谱-质谱(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)等。代谢产物是指相对分子质量小于 1 000 的小分子,包括一系列化合物,如有机酸、氨基酸、碳水化合物、肽、维生素、类固醇和异种生物制剂等。代谢组学研究通常分为靶向代谢组学和非靶向代谢组学(或代谢物谱)。靶向代谢组学的重点是对已知化合物的定量检测,而非靶向代谢组学的目的则是对整个未知代谢产物的模式进行筛选。

由于对特定疾病的重要因素没有任何假设,代谢组学可以从一个样本中识别出大量代谢产物,是理解疾病及改善诊断和治疗监测的公正工具^[11]。与其他组学技术不同的是,在人类中发现的代谢物的数量明显少于蛋白质、转录本或基因数量^[12],这使得代谢组学数据更容易分析和编译成独特的生物数据。除了常规实验室和放射学检查之外,ARDS 发病与急性弥漫性发作的其他病因还需要动态和实时的平台,以便及时、准确地进行临床决策。由于代谢变化通常发生在生理和(或)环境事件变化后数分钟秒内,与基因组和蛋白组相比,代谢组具有更大的动态性和实时监测生理变化的能力,并可作为潜在环境侵害、疾病进展或药物反应的监测方法^[13]。此外,小分子质量代谢物是参与代谢的所有生化 and 生理过程的终点,在生物级联反应的下游更接近表型。代谢物变化敏感,可以反映在新陈代谢和生物学途径中,而且这些代谢途径可能与 ARDS 表型及其导致的病理生理异常有关^[14],最终造成对治疗干预和疗法的反应不同,有望解决 ARDS 异质性的潜在混杂因素^[15]。因此,重要的是,应了解特定的代谢变化是何时、以何种方式与疾病相关联,从而导致不同患者的结局有所不同。综合代谢物谱的分析将有助于确定 ARDS 的易感性或急性发病特征^[15]。

在过去的 10 年中,代谢组学已被越来越多地用于识别疾病中的生物标志物。但代谢组学不仅是简单的生物标志物识别工具,随着信息学和分析技术的创新发展,以及生物正交方法的整合,现在有可能扩展代谢组学分析以了解代谢物在系统水平上的作用^[16]。代谢产物不仅是基因和蛋白质活性的生物标志物,实际上,其更具有深远的调控活性^[17]。代谢组与其他所有组学相互作用并积极调节,通过这种相互作用,代谢物还可以充当生物过程和表型的直接调节剂,通过其下游与基因和蛋白质修饰的连接,反馈环的转录组表达,分解代谢和代谢同化阶段来描述生理过程的复杂相互作用^[18]。关于代谢组学活性筛选的完整讨论不在本文的范围之内,其他文献中已有很好的描述^[17]。

总体来说,代谢组学通过检测一系列生物样本的代谢谱,再结合模式识别方法,有助于了解生物体内源性代谢物

的变化,判断病理生理状态,描述病理生理过程的复杂相互作用,筛选出有特征性的生物标志物。此外,这些生物相互作用的概念化将有助于分析 ARDS 亚表型、鉴定患者特征、理解复杂综合征异质性的基础机制和监测治疗干预。我们对代谢组学在 ARDS 研究中潜力的判断,不仅依赖于代谢组学的理论能力,同样有赖于代谢组学在其他肺部疾病中的成功实践。在很多异质性肺部疾病,如哮喘^[19-21]、慢性阻塞性肺疾病^[22-23]及特发性肺纤维化^[24]中,代谢组学都取得了一定的进展,并且有助于预测发病和分化表型,这正是我们期望代谢组学能为 ARDS 研究所做的。

3 ARDS 的代谢组学研究概述

3.1 ARDS 的临床前代谢组学研究

在大多数动物研究中,遗传背景、饮食和其他环境因素相对同质,个体间差异被最小化。由于这些因素在临床队列中不容易控制,而且人群往往需要更大样本量,因此,动物模型为测试治疗和理解人类疾病的病理生理学提供了一个可接受的临床前平台。单一的临床前实验动物模型常常不能准确地模拟 ARDS,给临床前制模和治疗测试造成了很大困难。尽管模型之间存在异质性,但这些模型也在很大程度上促进了我们对综合征的理解。急性肺损伤(acute lung injury, ALI) 特定的动物模型确实可捕捉到人类 ARDS 的元素。在模型的限制和正在测试的特定干预措施的解释下,动物模型可提供关于 ARDS 生理特定方面极好的针对性数据^[25]。相比较来说,小鼠的优势是相对容易进行敲除和其他基因操作来询问通路,而较大的动物则耐受更大的生理监测和更长的通气时间,更符合人类 ARDS^[25]。因此,未来研究可能需要在多个模型中进行测试以相互补充。

ARDS 动物模型中最可翻译的单一发现是呼吸机相关性肺损伤(ventilator-induced lung injury, VILI) 模型^[25]。在一项针对雄性 SD 大鼠的研究中, Izquierdo-García 等^[26]使用了 ARDS 的 VILI 模型,并且在肺组织、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 和血清中均发现由 VILI 诱导的代谢变化。值得注意的是, BALF 和肺组织中的代谢物与 ARDS 表型标志物相关,包括峰值吸气压力、动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO₂) 和组织学衍生的肺损伤评分。然而,这些指标与检测到的血清代谢物的相对强度之间没有关联。总体来说,这一初步的、定性的代谢组学研究结果表明细胞能量代谢发生了变化, ARDS 导致肺组织与 BALF 中葡萄糖和乳酸的变化,以及基于血清代谢物的变化和肺组织中甘氨酸减少,可能破坏了细胞膜完整性。这些代谢变化的大小与肺损伤的严重程度有关,提示对这些代谢物相关途径的探究可能有助于深入了解 ARDS 的发病机制。

在脂多糖诱导的雄性大鼠 ARDS 模型中, Bos 等^[27]利用一种新的收集和模式识别工具电子鼻(electronic nose, eNose) 与 GC-MS 联合应用来捕获及测量呼出气中的代谢物。eNose 是一种模式识别工具,它通过将大量挥发性有机化合物可逆地结合到 7 个金属氧化物传感器上来工作,从而导致电阻

的变化。该报告证明了呼出气作为一种可行的非侵入性生物流体在早期检测 ARDS 引起的肺代谢组学变化中的作用。此外,在静脉注射脂多糖后,一氧化氮合酶策略成功地在病程早期检测到肺损伤,尽管不如 GC-MS 检测得早。

ARDS 的人类细胞模型由于涉及肺上皮、血管内皮、免疫细胞、成纤维细胞等复杂的生物组织而不可行。但是,可以通过研究培养的人类细胞模型再现一些发生在 ARDS 中的细胞反应。研究显示,金黄色葡萄球菌感染对人气道上皮细胞 A549 模型代谢物的影响体现在细胞外谷氨酸和丙酮酸分泌的增加,以及细胞外甘氨酸、天冬氨酸和丙氨酸水平的增加,表明细胞对这些氨基酸的利用减少,进而影响核苷酸的重新合成^[28]。

这些研究有一个共同的主题:肺损伤导致能量和氧化应激代谢紊乱,其程度可能反映损伤的严重程度^[29],这一认知与目前已知的人类 ARDS 一致。然而,总体来说,这些研究没有促进 ARDS 实验模型的进展,而这是增强对临床情况转化所必需的,并且它们没有阐明目前仍未被认识到的可能与 ARDS 发病机制或严重程度相关的代谢途径。

3.2 ARDS 的临床代谢组学研究:在代谢组学研究设计中,样本类型起着重要作用,以得出相关信息和相应的最佳样本制备条件,这些条件是考虑生物标志物定向靶向图谱或非靶向全局代谢指纹所必需的,样本类型也会影响分析技术和统计方法的选择。目前 ARDS 常用的生物样本有血清、血浆、尿液、BALF、肺水肿液、组织样本,以及呼出气冷凝液(exhaled breath condensate, EBC)。

3.2.1 以 EBC 为样本的临床代谢组学研究:患者呼出气的化学分析是基于收集到的样本在活性炭上的吸附和浓缩、微波解析和 GC 分离。以 EBC 为样本的优点是无创安全,适用于非挥发性成分分析及纵向研究,且对于儿科患者可行^[30]。但分析结果时应考虑到采集的样本通常非常稀释且难以标准化,浓缩过程和液滴稀释的过程常常导致可变性。

1998 年, Schubert 等^[31]证明了呼出气可以用来识别与 ARDS 相关的代谢变化和过程。研究者应用靶向 GC-MS 比较了 19 例 ARDS 患者与 18 例外科 ICU 患者呼出气中的 9 种代谢产物,表明异戊二烯水平升高与 ARDS 严重程度相关。异戊二烯是沿着胆固醇合成的甲戊二烯途径形成的,胆固醇的合成与病情严重时肺内氧化损伤和炎症过程有关^[32];但是由于样本量小,缺乏后续验证研究,以及 GC-MS 结果重复性方面的困难,使得很难对异质性大的 ARDS 患者群体进行结果推断。

Bos 等^[33]进行了一项类似的研究,他们使用适当的对照组和更大的样本量发现,辛烷、乙醛和 3-甲基庚烷 3 种代谢物显著增加,区分了 ARDS 与非 ARDS 患者;并通过增加肺损伤预测评分(lung injury prediction score, LIPS)来提高诊断准确性^[34]。值得注意的是,研究者未发现 ARDS 与非 ARDS 患者之间异戊二烯水平的差异。这可能是由于两项研究的方法(靶向与非靶向)、测量时间(病程早期与病程后期)和混杂变量不同等,并且呼出的异戊二烯水平也会受到其他

因素的影响,如机械通气、镇静镇痛药物的使用和性别^[35]。该研究证明了较高水平的辛烷与 ARDS 有关,且与诊断的相关性比其他挥发性代谢物更强。辛烷是已知的脂质过氧化的最终产物,与氧化应激有关^[36]。除了辛烷,研究者认为乙醛和 3-甲基庚烷是 ARDS 的预测因子,但不能明确二者的来源,尚需进一步验证。另外,该研究无法区分直接 ARDS 与间接 ARDS^[33],亦不能按照严重程度区分 ARDS,故临床应用有限。

3.2.2 以血清/血浆为样本的临床代谢组学研究:血液样本由于其微创、易于收集和标准化、相对一致且易于制定方案等特点被广泛应用于代谢组学研究,尤其是多中心研究。血液样本可反映全身代谢状况,因此包含大量的潜在目标;但同样存在不足之处,如等离子体不太适合 NMR,特别是在使用过滤器的情况下,因此建议在等离子体离心之前或期间进行制冷。脂质组成以脂蛋白为主,可能会掩盖少量成分。为了最大程度地减少暴露于污染物和任何进一步的代谢衰减或酶促反应降解,对用于代谢组学研究的血液样本的制备和保存均有一定的要求^[37-38]。

2011 年, Stringer 等^[39]用血浆核磁共振氢谱(¹H-nuclear magnetic resonance, ¹H-NMR)评估了 13 例脓毒症引起的轻度 ARDS 患者与 6 例健康对照者之间的代谢差异。结果表明,与健康对照组相比,ARDS 患者的总谷胱甘肽、腺苷和磷脂酰丝氨酸水平显著增加,鞘磷脂水平降低。代谢变化涉及的代谢途径与 ARDS 发病机制有关,如氧化应激(谷胱甘肽)^[40]、能量代谢(腺苷)^[41]、凋亡(磷脂酰丝氨酸)和内皮屏障的破坏(鞘磷脂)^[42],并被发现与急性生理学评分(acute physiology score, APS)相关。虽然这只是一项初步研究,但它进一步强调了基于 NMR 的定量代谢组学在 ARDS 中的应用价值。

2014 年, Stringer 等^[43]在一项随访研究中使用了血清 ¹H-NMR 对 14 例 ARDS 患者与 33 例非机械通气脓毒症患者进行比较,结果显示,ARDS 与磷脂酰丝氨酸、总脂质、总亚甲基脂质和总胆碱水平增加均相关,确定了 ARDS 与脓毒症患者之间的代谢谱差异。该研究的不足在于样本量较小,并且由于有证据显示机械通气对代谢物有影响^[26, 44],因此该研究使用了由健康非通气个体组成的对照组,构成了潜在的重要混杂因素。另一项关于 ARDS 的重要开拓性试点研究确定了候选血清生物标志物,这些标志物可以区别 ALI/ARDS 患者与健康对照者,提供与 ALI 发病相对应的全身代谢改变^[45]。血清 MS 分析可以破译代谢紊乱,描述肠道微生物区系的炎症和代谢改变,有研究者对甲型 H1N1 病毒感染引起 ARDS 的潜在途径改变提供了新的见解,发现了 23 种可以代表甲型 H1N1 流感病毒感染引起 ARDS 的新型生物标志物^[46]。由于 ARDS 可以发生在多种不同的危险因素之后,代谢组学有望解决 ARDS 病因的异质性。

2015 年, Singh 等^[45]使用 ¹H-NMR 比较了 26 例不同病因 ARDS 患者(脓毒症、肺炎、疟疾、慢性酒精中毒和急性胰腺炎)与 19 例 ICU 非呼吸性原因(神经肌肉疾病、格林-巴利

综合征和胰腺炎)机械通气患者的血清代谢物水平,结果显示,ARDS患者表现出了更高水平的N-乙酰糖蛋白、乙酰乙酸、乳酸、肌酐、组氨酸、甲酸和支链氨基酸(branched chain amino acid, BCA)。BCA水平的增加归因于与肺损伤和感染相关的蛋白质分解代谢。该研究使用了适当的对照组,但样本量仍然相对较小。

2019年,Viswan等^[14]进行了一项高分辨率(800 MHz)的¹H-NMR研究,以期更好地描述ARDS的严重程度。研究者使用微型支气管肺泡灌洗液(mini-bronchoalveolar lavage fluid, m-BALF)和血清样本调查了ARDS“亚表型1”(ARDS严重程度分级,即轻度、中度、重度ARDS)及“亚表型2”(ARDS亚型,即肺内、肺外ARDS),其中血清样本176份,m-BALF样本146份,均有良好的指标区分ARDS的严重程度。该研究中构建的ARDS模型具有可靠的预测能力,能较准确地区分肺内与肺外ARDS。研究者还将之前的每个组细分为训练组和测试组,进一步研究了ARDS患者中存活者与死亡者的区别,探讨了ARDS的病死率,并进行了路径分析。但该研究计划不够清晰,且对每次使用的样本量的反复变化缺乏解释,导致没有结论性的发现。然而,它确实为代谢组学在ARDS异质性研究中的应用奠定了基础。

3.2.3 以BALF/m-BALF为样本的临床代谢组学研究:在对局部肺环境的评估方面,BALF/m-BALF可以提供比血液更详细的代谢信息。BALF与肺泡非常接近,代表了稀释的气道成分或由组织细胞、核酸、脂质及大多数肽和蛋白质组成的肺泡上皮衬液,通常是研究ARDS早期生物标志物和疾病进展的首选样本^[47-48]。2014年,Evans等^[49]使用BALF和非靶向LC-MS评估了18例不同病因ARDS患者(脓毒症、肺炎、误吸)与8例健康对照者的代谢差异,结果显示,ARDS患者的鸟苷、黄嘌呤、次黄嘌呤和乳酸水平升高,磷脂酰胆碱水平降低。这项研究建立了BALF的效用,并提供了区分ARDS复杂代谢网络的肺特异性代谢,如氨基酸、糖酵解和糖异生、脂肪酸、磷脂和嘌呤代谢。

由于支气管镜具有侵入性,因此可以采用非侵入性的方法来收集BALF,即从近端肺泡采集的m-BALF,二者信息量几乎相同。目前推荐将m-BALF用于严重肺损伤的生物标志物研究^[50-51]。Rai等^[52]采用¹H-NMR分析了m-BALF样本,比较了21例ARDS(11例轻度、10例中/重度ARDS)与9例ICU机械通气患者(对照组)m-BALF中的代谢物水平,结果显示,与对照组相比,ARDS患者的BCA、精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸、琥珀酸、谷氨酸和乳酸的水平增加,乙醇、乙酸和脯氨酸的水平降低;ARDS队列中乳酸水平增加与肺部炎症和无氧代谢有关。但是,由于获取m-BALF时用到了生理盐水,导致样本蛋白质和盐含量较高而代谢物相对较少,限制了¹H-NMR的应用,因此,LC-MS可能是该研究更适合的平台^[49]。

3.2.4 以肺水肿液为样本的临床代谢组学研究:肺水肿液可以在插管时采集,未稀释的肺水肿液对于ARDS的诊断和预后具有重要意义^[53-55]。ARDS肺水肿液以高蛋白含量为特

征,肺水肿液/血浆蛋白比值可用于区分ARDS与静压性肺水肿^[54]。从连续获取的肺水肿液样本中得到的蛋白质清除率在ARDS中也具有提示预后的重要性^[56]。研究表明,在插管后6h内不能开始清除肺水肿的患者有较高的ICU死亡风险^[53];肺泡液清除功能的恢复可以减轻肺损伤^[57]。因此,肺水肿液可用于ARDS的临床代谢组学研究。

2017年,Rogers等^[58]使用了超高效液相色谱-串联质谱(ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UHLC-MS/MS)分析并比较16例ARDS患者与13例静压性肺水肿患者的肺水肿液。他们假设存在一个具有独特代谢特征的ARDS亚群,试图证明ARDS的代谢异质性,其中1/3的ARDS受试者被确定为一个特征明显的亚群。但该研究无法区分ARDS与静压性肺水肿患者。

3.3 总结

迄今为止,从ARDS的实验和临床研究中产生的代谢组学数据表明能量和氧化应激代谢受到干扰,如过度的糖酵解和糖异生,增强的胶原蛋白合成和纤维化(精氨酸和脯氨酸代谢),负氮平衡(尿素循环)及能量平衡(腺苷)紊乱,炎症(甘油磷脂代谢),加速的细胞凋亡(嘌呤和嘧啶代谢),这与目前对ARDS的已知情况一致。样本量充足的临床研究仍然很少,且尚未确定哪种样本更加合适,有待针对代谢组学分析方法领域的进一步探索。重要的是,目前尚无多中心的前瞻性研究和可靠的验证测试。目前关于ARDS代谢组学的大量知识是从小型研究中获得的,这些研究证明了代谢组学在ARDS未触及和未探究的病理生理基础方面的可行性,并提供了该领域区分ARDS表型和区分肺损伤严重程度的前景。大多数代谢组学研究试图探索临床上直接与间接ARDS之间的代谢差异,但进展有限。除了粗略的途径分析,没有对ARDS代谢异质性的本质提供解释,以及在未来的转化研究中利用这些知识改善ARDS患者护理的潜在方法。上述提及的ARDS临床代谢组学研究总结于表1。

4 未来展望

尽管有巨大的潜力,ARDS代谢组学研究仍处于起步阶段。目前对研究ARDS的最佳样本类型仍然缺乏共识。血液代谢物代表全身生物系统之间的整体相互作用,因此不如局部肺代谢物具有特异性。此外,局部肺取样技术更具侵入性,通常不太敏感,因为它们提供的稀释样本不够标准化,不太适合前瞻性随访所需的重复测量。分歧还在于研究人群与对照的选择及所使用的分析方法的差异。因此患者的招募需要标准化,即纳入一个合适的能代表病情谱系的ARDS研究队列,纳入机械通气的ICU对照,严格匹配对照与研究队列,以及对采样和准备技术进行严格的标准化。在分析方法上,需要提高NMR的敏感度。对于基于MS的方法,目前正在测试解决大量未知代谢物的新策略。更重要的是,现在是时候做出更协调的努力,增加研究的总体样本量,进一步验证结果,进行前瞻性纵向研究,以确保结果的可信度,并跟踪疾病的发展过程。面对这些挑战,我们期待着代谢组学技术日益成熟的未来,以及代谢组学解决ARDS异质性难题的一天。

表 1 ARDS 临床代谢组学研究

文献	年份 (年)	研究目的	试验组人群及样本量	对照组人群及样本量	样本类型	分析平台	代谢物数量 (个)	ARDS 相关代谢物
Schubert 等 ^[31]	1998	诊断 ARDS	SICU 中 ARDS 患者 (n=19)	SICU 机械通气患者 (n=18)	呼出气	GC-MS	9	异戊二烯
Stringer 等 ^[39]	2011	诊断 ARDS、脓毒症引起的 ARDS 严重程度	患者 (n=13)	健康对照者 (n=6)	血浆	¹ H-NMR	40	总谷胱甘肽、腺苷、磷脂酰丝氨酸、鞘磷脂
Rai 等 ^[52]	2013	诊断 ARDS	ARDS 患者 (n=21)	ICU 机械通气患者 (n=9)	m-BALF	¹ H-NMR	>100	BCA、精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸、琥珀酸、谷氨酸、乳酸、乙醇、醋酸、脯氨酸
Evans 等 ^[49]	2014	诊断 ARDS	以脓毒症、肺炎和误吸为原发病的 ARDS 患者 (n=18)	健康对照者 (n=8)	BALF	LC-MS	>500	鸟苷、黄嘌呤、次黄嘌呤、乳酸、磷脂酰胆碱
Bos 等 ^[33]	2014	诊断 ARDS、入 ICU 24 h 内进行机械通气的 ARDS 严重程度	患者 (n=42)	入 ICU 24 h 内进行机械通气的非 ARDS 患者 (n=59)	呼出气	GC-MS	>500	3-甲基庚烷、辛烷、乙醛
Stringer 等 ^[43]	2014	诊断 ARDS	ARDS 患者 (n=14)	非机械通气的脓毒症患者 (n=33)	血清	¹ H-NMR	51	磷脂酰丝氨酸、总脂质、总亚甲基脂质、总胆碱
Singh 等 ^[45]	2015	诊断 ARDS	ARDS 患者 (n=26)	非 ARDS 机械通气患者 (n=19)	血清	¹ H-NMR	>100	N-乙酰糖蛋白、乙酰乙酸、乳酸、肌酐、组氨酸、甲酸盐、BCA
Rogers 等 ^[58]	2017	诊断 ARDS、异质性	ARDS 患者 (n=16)	静水性肺水肿患者 (n=13)	肺水肿液	UHLC-MS/MS	760	1/3 的 ARDS 患者中 235 种代谢物水平显著升高
Viswan 等 ^[14]	2019	诊断 ARDS、严重程度、异质性	ARDS 患者： 严重程度：血清 (n=176)， m-BALF (n=146)； 异质性：血清 (n=147)， m-BALF (n=128)	择期手术的机械通气患者：血清 (n=68)， m-BALF (n=40)	血清、m-BALF	¹ H-NMR 血清：54， m-BALF：52	血清：脯氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸； m-BALF：异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、赖氨酸/精氨酸、酪氨酸、苏氨酸	

注：ARDS 为急性呼吸窘迫综合征，SICU 为外科重症监护病房，ICU 为重症监护病房，m-BALF 为微型支气管肺泡灌洗液，BALF 为支气管肺泡灌洗液，GC-MS 为气相色谱-质谱，¹H-NMR 为核磁共振质谱，LC-MS 为液相色谱-质谱，UHLC-MS/MS 为超高效液相色谱-串联质谱，BCA 为支链氨基酸

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Kaku S, Nguyen CD, Hiet NN, et al. Acute respiratory distress syndrome: etiology, pathogenesis, and summary on management [J]. *J Intensive Care Med*, 2020, 35 (8): 723-737. DOI: 10.1177/0885066619855021.

[2] 中华医学会重症医学分会重症呼吸学组. 急性呼吸窘迫综合征患者俯卧位通气治疗规范化流程 [J]. *中华内科杂志*, 2020, 59 (10): 781-787. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20200430-00439.

[3] 韩进海, 马四清, 孙斌, 等. 持续俯卧位通气在高原重度急性呼吸窘迫综合征患者救治中的应用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (2): 161-164. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200707-00502.

[4] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 788-800. DOI: 10.1001/jama.2016.0291.

[5] Bhalla AK, Klein MJ, Emeriaud G, et al. Adherence to lung-protective ventilation principles in pediatric acute respiratory distress syndrome: a pediatric acute respiratory distress syndrome incidence and epidemiology study [J]. *Crit Care Med*, 2021, 49 (10): 1779-1789. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005060.

[6] Villar J, Martínez D, Mosteiro F, et al. Is overall mortality the right composite endpoint in clinical trials of acute respiratory distress syndrome? [J]. *Crit Care Med*, 2018, 46 (6): 892-899. DOI: 10.1097/CCM.0000000000003022.

[7] Ferguson ND, Fan E, Camporota L, et al. The Berlin definition of ARDS: an expanded rationale, justification, and supplementary material [J]. *Intensive Care Med*, 2012, 38 (10): 1573-1582. DOI: 10.1007/s00134-012-2682-1.

[8] Luyt CE, Bouadma L, Morris AC, et al. Pulmonary infections complicating ARDS [J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46 (12): 2168-2183. DOI: 10.1007/s00134-020-06292-z.

[9] Laffey JG, Bellani G, Pham T, et al. Potentially modifiable factors contributing to outcome from acute respiratory distress syndrome: the LUNG SAFE study [J]. *Intensive Care Med*, 2016, 42 (12): 1865-1876. DOI: 10.1007/s00134-016-4571-5.

[10] Lains J, Gantner M, Murinello S, et al. Metabolomics in the study of retinal health and disease [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2019, 69: 57-79. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2018.11.002.

[11] Antcliffe D, Gordon AC. Metabonomics and intensive care [J]. *Crit Care*, 2016, 20: 68. DOI: 10.1186/s13054-016-1222-8.

[12] Metwally SM, Winston BW. Systems biology ARDS research with a focus on metabolomics [J]. *Metabolites*, 2020, 10 (5): 207. DOI: 10.3390/metabo10050207.

[13] Griffin JL. Twenty years of metabolomics: so what has metabolomics done for toxicology? [J]. *Xenobiotica*, 2020, 50 (1): 110-114. DOI: 10.1080/00498254.2019.1697015.

[14] Viswan A, Ghosh P, Gupta D, et al. Distinct metabolic endotype mirroring acute respiratory distress syndrome (ARDS) subphenotype and its heterogeneous biology [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 2108. DOI: 10.1038/s41598-019-39017-4.

[15] Viswan A, Singh C, Kayastha AM, et al. An NMR based panorama of the heterogeneous biology of acute respiratory distress syndrome (ARDS) from the standpoint of metabolic biomarkers [J]. *NMR Biomed*, 2020, 33 (2): e4192. DOI: 10.1002/nbm.4192.

[16] Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17 (7): 451-459. DOI: 10.1038/nrm.2016.25.

[17] Rinschen MM, Ivanisevic J, Giera M, et al. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20 (6): 353-367. DOI: 10.1038/s41580-019-0108-4.

[18] Piazza I, Kochanowski K, Cappelletti V, et al. A map of protein-metabolite interactions reveals principles of chemical communication [J]. *Cell*, 2018, 172 (1-2): 358-372. e23. DOI: 10.1016/j.cell.2017.12.006.

[19] Kelly RS, Dahlin A, McGeachie MJ, et al. Asthma metabolomics and the potential for integrative omics in research and the clinic [J]. *Chest*, 2017, 151 (2): 262-277. DOI: 10.1016/j.chest.2016.10.008.

- [20] Chang-Chien J, Huang HY, Tsai HJ, et al. Metabolomic differences of exhaled breath condensate among children with and without asthma [J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2021, 32 (2): 264–272. DOI: 10.1111/pai.13368.
- [21] 李慧茹, 段春磊, 周林琼, 等. 代谢组学评价方法在支气管哮喘研究中的应用进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (8): 1021–1024. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210128-00157.
- [22] Maniscalco M, Fuschillo S, Paris D, et al. Clinical metabolomics of exhaled breath condensate in chronic respiratory diseases [J]. *Adv Clin Chem*, 2019, 88: 121–149. DOI: 10.1016/bs.acc.2018.10.002.
- [23] Bowerman KL, Rehman SF, Vaughan A, et al. Disease-associated gut microbiome and metabolome changes in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Nat Commun*, 2020, 11 (1): 5886. DOI: 10.1038/s41467-020-19701-0.
- [24] 潘婷钰, 何海浪, 周贤梅. 特发性肺纤维化代谢组学研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2021, 41 (12): 941–945. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20200925-00871.
- [25] Yehya N. Lessons learned in acute respiratory distress syndrome from the animal laboratory [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7 (19): 503. DOI: 10.21037/atm.2019.09.33.
- [26] Izquierdo-García JL, Naz S, Nin N, et al. A metabolomic approach to the pathogenesis of ventilator-induced lung injury [J]. *Anesthesiology*, 2014, 120 (3): 694–702. DOI: 10.1097/ALN.000000000000074.
- [27] Bos LD, van Walree IC, Kolk AH, et al. Alterations in exhaled breath metabolite-mixtures in two rat models of lipopolysaccharide-induced lung injury [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2013, 115 (10): 1487–1495. DOI: 10.1152/jappphysiol.00685.2013.
- [28] Gierok P, Harms M, Methling K, et al. *Staphylococcus aureus* infection reduces nutrition uptake and nucleotide biosynthesis in a human airway epithelial cell line [J]. *Metabolites*, 2016, 6 (4): 41. DOI: 10.3390/metabo6040041.
- [29] 林锦乐, 史旻, 卢彦秀, 等. 四种细胞来源生物标志物在急性呼吸窘迫综合征大鼠中的变化特点 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2020, 29 (11): 1417–1424. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2020.11.007.
- [30] Zhou ML, Sharma R, Zhu HB, et al. Rapid breath analysis for acute respiratory distress syndrome diagnostics using a portable two-dimensional gas chromatography device [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411 (24): 6435–6447. DOI: 10.1007/s00216-019-02024-5.
- [31] Schubert JK, Müller WP, Benzing A, et al. Application of a new method for analysis of exhaled gas in critically ill patients [J]. *Intensive Care Med*, 1998, 24 (5): 415–421. DOI: 10.1007/s001340050589.
- [32] Nagase M, Sakurai A, Sugita A, et al. Oxidative stress and abnormal cholesterol metabolism in patients with post-cardiac arrest syndrome [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2017, 61 (2): 108–117. DOI: 10.3164/jcfn.17-30.
- [33] Bos LD, Weda H, Wang YY, et al. Exhaled breath metabolomics as a noninvasive diagnostic tool for acute respiratory distress syndrome [J]. *Eur Respir J*, 2014, 44 (1): 188–197. DOI: 10.1183/09031936.00005614.
- [34] Gajic O, Dabbagh O, Park PK, et al. Early identification of patients at risk of acute lung injury: evaluation of lung injury prediction score in a multicenter cohort study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183 (4): 462–470. DOI: 10.1164/rccm.201004-0549OC.
- [35] Tanda N, Hoshikawa Y, Sato T, et al. Exhaled acetone and isoprene in perioperative lung cancer patients under intensive oral care: possible indicators of inflammatory responses and metabolic changes [J]. *Biomed Res*, 2019, 40 (1): 29–36. DOI: 10.2220/biomedres.40.29.
- [36] Riely CA, Cohen G, Lieberman M. Ethane evolution: a new index of lipid peroxidation [J]. *Science*, 1974, 183 (4121): 208–210. DOI: 10.1126/science.183.4121.208.
- [37] Vignoli A, Ghini V, Meoni G, et al. High-throughput metabolomics by 1D NMR [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58 (4): 968–994. DOI: 10.1002/anie.201804736.
- [38] Gómez-Archila LG, Palomino-Schätzlein M, Zapata-Builes W, et al. Development of an optimized method for processing peripheral blood mononuclear cells for ¹H-nuclear magnetic resonance-based metabolomic profiling [J]. *PLoS One*, 2021, 16 (2): e0247668. DOI: 10.1371/journal.pone.0247668.
- [39] Stringer KA, Serkova NJ, Karnovsky A, et al. Metabolic consequences of sepsis-induced acute lung injury revealed by plasma ¹H-nuclear magnetic resonance quantitative metabolomics and computational analysis [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 300 (1): L4–L11. DOI: 10.1152/ajplung.00231.2010.
- [40] Bartolini D, Stabile AM, Bastianelli S, et al. SARS-CoV2 infection impairs the metabolism and redox function of cellular glutathione [J]. *Redox Biol*, 2021, 45: 102041. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102041.
- [41] Brealey D, Brand M, Hargreaves I, et al. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock [J]. *Lancet*, 2002, 360 (9328): 219–223. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)09459-X.
- [42] Stevens RP, Paudel SS, Johnson SC, et al. Endothelial metabolism in pulmonary vascular homeostasis and acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321 (2): L358–L376. DOI: 10.1152/ajplung.00131.2021.
- [43] Stringer KA, Jones AE, Puskarić MA, et al. ¹H-nuclear magnetic resonance (NMR)-detected lipids associated with apoptosis differentiate early acute respiratory distress syndrome (ARDS) from sepsis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189: A5000.
- [44] Owens RL, Stigler WS, Hess DR. Do newer monitors of exhaled gases, mechanics, and esophageal pressure add value? [J]. *Clin Chest Med*, 2008, 29 (2): 297–312, vi–vii. DOI: 10.1016/j.ccm.2008.02.001.
- [45] Singh C, Rai RK, Azim A, et al. Metabolic profiling of human lung injury by ¹H high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy of blood serum [J]. *Metabolomics*, 2015, 11 (1): 166–174. DOI: 10.1007/s11306-014-0688-0.
- [46] Ferrarini A, Righetti L, Martínez MP, et al. Discriminant biomarkers of acute respiratory distress syndrome associated to H1N1 influenza identified by metabolomics HPLC-QTOF-MS/MS platform [J]. *Electrophoresis*, 2017, 38 (18): 2341–2348. DOI: 10.1002/elps.201700112.
- [47] Nakos G, Kitsioulis EI, Tsangaris I, et al. Bronchoalveolar lavage fluid characteristics of early intermediate and late phases of ARDS. Alterations in leukocytes, proteins, PAF and surfactant components [J]. *Intensive Care Med*, 1998, 24 (4): 296–303. DOI: 10.1007/s001340050571.
- [48] Papadopoulos S, Kazepidou E, Antonelou MH, et al. Secretory phospholipase A₂-II A protein and mRNA pools in extracellular vesicles of bronchoalveolar lavage fluid from patients with early acute respiratory distress syndrome: a new perception in the dissemination of inflammation? [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2020, 13 (11): 415. DOI: 10.3390/ph13110415.
- [49] Evans CR, Karnovsky A, Kovach MA, et al. Untargeted LC-MS metabolomics of bronchoalveolar lavage fluid differentiates acute respiratory distress syndrome from health [J]. *J Proteome Res*, 2014, 13 (2): 640–649. DOI: 10.1021/pr4007624.
- [50] Neves CP, Costa AG, Safe IP, et al. The role of mini-bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in critically ill patients [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20 (1): 229. DOI: 10.1186/s12879-020-04954-3.
- [51] Samanta S, Poddar B, Azim A, et al. Significance of mini bronchoalveolar lavage fluid amylase level in ventilator-associated pneumonia: a prospective observational study [J]. *Crit Care Med*, 2018, 46 (1): 71–78. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002774.
- [52] Rai RK, Azim A, Sinha N, et al. Metabolic profiling in human lung injuries by high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) [J]. *Metabolomics*, 2013, 9 (3): 667–676. DOI: 10.1007/s11306-012-0472-y.
- [53] Ware LB, Matthay MA. Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163 (6): 1376–1383. DOI: 10.1164/ajrcm.163.6.2004035.
- [54] Ware LB, Fremont RD, Bastarache JA, et al. Determining the aetiology of pulmonary oedema by the oedema fluid-to-plasma protein ratio [J]. *Eur Respir J*, 2010, 35 (2): 331–337. DOI: 10.1183/09031936.00098709.
- [55] Jabaudon M, Blondonnet R, Lutz J, et al. Net alveolar fluid clearance is associated with lung morphology phenotypes in acute respiratory distress syndrome [J]. *Anaesth Crit Care Pain Med*, 2016, 35 (2): 81–86. DOI: 10.1016/j.acepm.2015.11.006.
- [56] 温旭鹏, 万齐全. 钠泵调节在急性呼吸窘迫综合征肺水清除中作用的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (8): 1011–1016. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200724-00542.
- [57] Hsieh PC, Kuo CY, Wu CP, et al. Nonionic surfactant attenuates acute lung injury by restoring epithelial integrity and alveolar fluid clearance [J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18 (6): 1363–1374. DOI: 10.7150/ijms.51905.
- [58] Rogers AJ, Contrepoint K, Wu MH, et al. Profiling of ARDS pulmonary edema fluid identifies a metabolically distinct subset [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 312 (5): L703–L709. DOI: 10.1152/ajplung.00438.2016.