

福州地区 0~3 岁健康儿童外周血红细胞膜六项脂肪酸指标参考区间调查

吴汝香, 黄林娟, 林 珊, 张忠龙, 林祥泉 (福建医科大学附属福州儿童医院, 福州 350005)

摘要: 目的 对福州地区 0~3 岁健康儿童外周血红细胞膜中脂肪酸含量 6 项指标的参考区间进行调查。方法 选取 2019 年 3 月~2020 年 2 月来福州儿童医院体检的 0~3 岁健康儿童 60 例, 分别检测 omega-6 多不饱和脂肪酸 (PUFA) 总量 (简称 omega-6) (包括亚油酸、 γ -亚麻酸、二十碳二烯酸、二十碳三烯酸、花生四烯酸和二十二碳四烯酸), omega-3 PUFA 总量 (简称 omega-3) (包括 α -亚麻酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸), 单不饱和脂肪酸 (MUFA) 总量 (包括十六碳一烯酸、十八碳一烯酸、二十碳一烯酸和二十四一烯酸), 饱和脂肪酸 (SFA) 总量 (包括十四烷酸、十六烷酸、十八烷酸、二十烷酸、二十二烷酸和二十四烷酸), omega-6/omega-3 比值和 omega-3 指数 (即二十碳五烯酸与二十二碳六烯酸总和) 共 6 项指标, 含量以百分比 (%) 为单位, 用于初步调查生物参考区间, 均采用 $\bar{x} \pm 1.96s$ 表示。结果 6 项指标不同性别、不同年龄差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 初步建立 omega-6 (25.43%~34.09%), omega-3 (7.03%~16.68%), MUFA (14.02%~18.70%), SFA (38.95%~46.35%), omega-6/omega-3 (1.26~4.61) 和 omega-3 指数 (4.62%~13.08%) 六项指标参考区间。结论 种族、地域、性别、年龄及饮食结构的差异会影响六项指标的参考区间, 其不仅客观反映了人体内脂肪酸的分布状况, 而且为 0~3 岁健康儿童临床检测的结果提供参照; 并为儿童补充 omega-3 PUFA 提供科学依据, 更为进一步建立中国健康人群 PUFA 的参考区间打下基础。

关键词: 红细胞膜脂肪酸; omega-6; omega-3; 单不饱和脂肪酸; 饱和脂肪酸; 参考区间

中图分类号: R446.112 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 01-096-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.01.024

Investigation on Reference Intervals of Six fatty Acids Indexes of Peripheral Blood Erythrocyte Membrane in Healthy Children Aged 0~3 Years in Fuzhou

WU Ru-xiang, HUANG Lin-juan, LIN Shan, ZHANG Zhong-long, LIN Xiang-quan

(Fuzhou Children's Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China)

Abstract: **Objective** To investigate the reference intervals of 6 indicators of fatty acid content on erythrocyte membrane in peripheral blood of healthy children aged 0~3 years in Fuzhou. **Methods** 60 healthy children aged 0~3 years in Fuzhou Children's Hospital from March 2019 to February 2020 were selected. The fatty acid content on the erythrocyte membrane was measured in percentage (%). The total amount of omega-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA, referred to as omega-6, including linoleic acid, γ -linolenic acid, eicosanoic acid, eicosanoic acid, arachidonic acid, docosahexanoic acid), omega-3 PUFA (referred to as omega-3, including α -linolenic acid, eicosapentaenoic acid, docosahexanoic acid, docosahexanoic acid), monounsaturated fatty acids (MUFA, including hexadecanoic acid, octadecanoic acid, eicosanoic acid, docosanoic acid) saturated fatty acids (SFA, including tetradecanoic acid, hexadecanoic acid, octadecanoic acid, icosanoic acid, docosanoic acid, tetradecanoic acid) were detected respectively, and the ratio of omega-6/omega-3 and the index of omega-3 (EPA+DHA%) were calculated for the initial establishment of the biological reference interval, which were expressed as $\bar{x} \pm 1.96s$. **Results** There were no statistically significant differences in the 6 indicators among children of different genders and ages ($P > 0.05$). Six reference intervals of omega-6 (25.43%~34.09%), omega-3 (7.03%~16.68%), MUFA (14.02%~18.70%), SFA (38.95%~46.35%), omega-6/omega-3 (1.26~4.61) and omega-3 index (4.62%~13.08%) were preliminarily established. **Conclusion** The differences of race, region, gender, age and diet structure will affect the reference interval of the six items, which not only objectively reflects the distribution of fatty acids in human body, but also provides reference for clinical test results of 0~3 healthy children. It also provides scientific basis for children to supplement omega-3 PUFA, and lays a foundation for further establishing the reference range of PUFA for healthy Chinese population.

Keywords: erythrocyte membrane fatty acid; omega-6; omega-3; MUFA; SFA; reference range

细胞膜中脂肪酸包括多不饱和脂肪酸 (poly unsaturated fatty acids, PUFA)、单不饱和脂肪酸

作者简介: 吴汝香 (1980-), 女, 副主任检验技师, 研究方向: 生化、免疫, E-mail: 41048382@qq.com。

通讯作者: 林祥泉, 副主任检验技师, E-mail: Lxq97@126.com。

(monounsaturated fatty acids, MUFA) 和饱和脂肪酸 (saturated fatty acids, SFA), 其代谢的改变影响细胞结构、功能及信号通路, 与心血管疾病、肿瘤和糖尿病等慢性疾病的发生发展密切相关^[1-2]。临床医生对疾病预测、诊疗、预后监测依赖实验室检测数据, 而判断数据基本尺度就是用参考区间来衡量。目前国内针对儿童红细胞膜中脂肪酸与疾病关系的研究及建立正常参考区间尚为空白, 本研究调查了福州地区 0~3 岁健康儿童外周血红细胞中脂肪酸六指标的参考区间, 旨在对疾病诊疗提供帮助。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2019 年 3 月 ~ 2020 年 2 月本地区来我院儿童保健科健康体检的 0~3 岁儿童 60 例, 其中男、女各 30 例。根据《临床实验室如何确定和建立生物参考区间; 批准指南 - 第 3 版》(EP28-A3c 指南)^[3]的要求, 男女按照 0~1 岁、1~2 岁、2~3 岁年龄段分为 3 组。所有对象均对其进行生活方式调查。

纳入标准: ①福州市区或行政辖区内的常住人员 (连续长住 5 年以上); ②身体质量指数 (BMI) 正常 (参照标准)^[4]。

排除标准: ①排除感冒、发烧、正在服用药物儿童; ②排除患有糖尿病、高血压、肝炎、慢性心肺功能不全、急慢性肾病、冠心病、哮喘及癫痫等各种急性、慢性内外科疾病儿童; ③排除各种肿瘤儿童; ④抑郁、智能障碍等各种精神疾病儿童; ⑤排除近期服用深海鱼油等保健品儿童。

1.2 仪器与试剂 QP2010 Ultra 气相色谱-质谱仪 (日本岛津公司); 正己烷 (色谱纯, 德国 Merck 公司); BHT(2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚), 3mol/L 盐酸/甲醇, 20 种脂肪酸甲酯标准品, 乙醇 (色谱纯), 内标十七烷酸 (均为美国 Sigma 公司); 安捷伦 DB-23 色谱柱。

1.3 方法 严格按照《全国临床检验操作规程》要求采用肝素钠或 EDTA-K₂ 管抽取 1ml 静脉血液样本^[5], 1 730 × g 离心 5 min, 收集下层红细胞, 用 1:1(v:v) 生理盐水洗涤, 重复操作一次, 生理盐水 1:1(v:v) 稀释红细胞混匀 (简称样本)。在 BHT(2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚) 乙醇溶液处理的反应管中加入样本和十七烷酸正己烷内标溶液各 50 μl, 再加入 1ml 3mol/L 的盐酸/甲醇溶液, 置 90℃ 烘箱 3h。用 2 ml 正己烷萃取脂肪酸甲酯产物, 加入 400 μl 溶解萃取物后转移至分析专用小瓶, 密封 -20℃ 保存或直接上样分析^[6]。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析, 总体数据进行 Kolmogorov-Smirnov(K-S) 正态检验。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 95%

参考区间以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 描述, 组间比较采用独立样本 t 检验; 非正态分布资料以中位数 (M) 四分位数 (P_{25}, P_{75}) 表示, 95% 参考区间以 $[P_{2.5}, P_{97.5}]$ 描述, 两组间比较采用 Mann-Whitney 检验, 多组独立样本比较采用 Kruskal-Wallis 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总体结果分析 见表 1。60 例儿童外周血红细胞膜中脂肪酸六指标结果比较, K-S 检验均为正态分布 (均 $P > 0.05$)。

表 1 六项脂肪酸指标总体结果比较 ($\bar{x} \pm s$, %)

项目	结果	P 值
omega-6	29.76 ± 0.29	0.200
omega-3	11.46 ± 0.28	0.200
MUFA	16.36 ± 0.15	0.200
SFA	42.65 ± 0.24	0.200
omega-6/omega-3	2.73 ± 0.09	0.200
omega-3 指数	8.58 ± 0.24	0.200

2.2 性别分组分析 见表 2。男性组与女性组外周血红细胞膜中脂肪酸六项目结果比较, 采用独立样本 t 检验。显示差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

表 2 六项脂肪酸指标性别分组结果比较 ($\bar{x} \pm s$, %)

项目	男性	女性	t 值	P 值
omega-6	30.00 ± 2.33	29.53 ± 2.09	0.811	0.421
omega-3	11.07 ± 2.26	11.84 ± 2.12	-1.371	0.176
MUFA	16.50 ± 1.32	16.21 ± 1.05	0.948	0.347
SFA	42.45 ± 1.63	42.84 ± 2.12	-0.815	0.419
omega-6/omega-3	2.85 ± 0.72	2.62 ± 0.67	1.287	0.203
omega-3 指数	8.27 ± 1.94	8.90 ± 1.75	-1.319	0.192

2.3 年龄分组分析 见表 3。分为 0~1 岁、1~2 岁、2~3 岁共 3 组, 单因素方差分析。omega-3, omega-6/omega-3, omega-3 指数三项目显示差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

2.4 不同年龄段需要分组项目比较 omega-3, omega-6/omega-3, omega-3 指数三项目单因素方差分析差异有统计学意义, 按年龄段分三组, 使用 SNK 事后检验两两比较, 结果显示三个年龄段间两两比较, 差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 且最多 2 个同类子集, 故无需按年龄分组。

2.5 儿童外周血红细胞膜中六项脂肪酸指数参考区间 见表 4。调查性别、年龄均无差异项目合并, 计算参考区间, 以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 表示。

表3 六项脂肪酸指标年龄段分组结果比较 ($\bar{x} \pm s$, %)

项目	年龄			F值	P值
	0~1岁	1~2岁	2~3岁		
omega-6	30.97 ± 2.88	29.24 ± 2.22	29.92 ± 1.86	2.058	0.137
omega-3	10.07 ± 1.55	12.29 ± 2.24	11.05 ± 2.07	4.336	0.018
MUFA	16.93 ± 1.94	16.37 ± 1.17	16.16 ± 0.90	1.281	0.286
SFA	42.65 ± 2.48	42.41 ± 2.17	42.89 ± 1.36	0.411	0.665
omega-6/omega-3	3.18 ± 0.73	2.48 ± 0.62	2.84 ± 0.69	4.007	0.024
omega-3 指数	7.85 ± 1.29	9.38 ± 1.89	8.01 ± 1.73	4.759	0.012

表4 0~3岁健康儿童外周血红细胞膜中六项脂肪酸指数参考区间

项目	参考区间	项目	参考区间
omega-6 (%)	25.43~34.09	MUFA (%)	14.02~18.70
omega-3 (%)	7.03~16.68	SFA (%)	38.95~46.35
omega-6/omega-3	1.26~4.61	omega-3 指数 (%)	4.62~13.08

3 讨论

具有独特生物活性物质的 PUFA 主要包括 omega-6 和 omega-3 两大系列。omega-6 包括亚油酸 (LA), γ -亚麻酸, 二十碳二烯酸, 二十碳三烯酸, 花生四烯酸 (AA) 和二十二碳四烯酸, 主要存在于玉米油、葵花子油和红花油中; omega-3 包括 α -亚麻酸 (ALA), 二十碳五烯酸 (EPA), 二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸 (DHA), 其中 ALA 主要来源于核桃、亚麻子和菜籽等植物油, 而 EPA 和 DHA 主要来源于深海鱼油^[7]。这两类 PUFA 都是合成类二十碳烷酸化合物的前体, 具有稳固细胞膜功能、调控基因表达、维持细胞因子和脂蛋白平衡、抗心血管疾病、抗炎和抗癌等生理功能, 一直是营养生化学科的研究热点^[8]。

omega-6 和 omega-3 PUFA 在生物体内的代谢存在竞争性抑制关系。omega-6 中 2 系前列腺素和 4 系白三烯等代谢产物具有强炎性作用, 而 omega-3 的 3 系前列腺素和 5 系白三烯等代谢产物具有低炎性作用^[8-10]。omega-6 促进儿童生长发育, 缺乏 LA 出现发育迟缓和湿疹皮炎等。omega-3 对脑和视网膜、皮肤和肾功能的健全十分重要, 然而长期过量食用 DHA 会引起精神过度兴奋难入睡, EPA 过量反而不利于婴幼儿生长发育^[8]。由于哺乳动物缺乏由 omega-6 转化为 omega-3 的酶, 且 ALA 转化为 EPA 和 DHA 的效率非常低, 需要从饮食等其他途径补充 EPA 和 DHA。WHO 建议每天摄入 EPA 和 DHA 总量 0.3~0.5g^[11]。

近 100~150 年以来, 人类膳食结构发生巨大的变化。人类的食物中 omega-3 明显减少, 同时

含有过量的 omega-6。omega-6/omega-3 值由过去的 1~2:1 迅速提高, 研究显示, 合理的膳食中 omega-6/omega-3 值应该为 4~5:1^[11]。高 omega-6/omega-3 值膳食引发一系列的慢性疾病, 如心血管疾病、肥胖、糖尿病、癌症、炎症及自身免疫性疾病等^[11-14]。检测血液透析病人血液中的脂质谱发现 omega-6/omega-3 值比正常人明显升高, 且高 omega-6/omega-3 值与动脉硬化有关^[15-16]。高 omega-6/omega-3 值与小孩智力低下相关^[17], 还与肿瘤的发生发展有密切关系^[18]。因此平衡膳食对于保持身体健康和预防多种慢性疾病具有极为重要的意义。

检测 EPA 和 DHA 在其脂类物质中的百分比和, 反映出 omega-3 在机体内的含量, 称为 omega-3 指数。流行病学调查研究表明, 血液中存在高水平的 EPA 和 DHA 可以降低患心血管疾病的风险, omega-3 指数已经作为反映心血管疾病风险的新指标^[13]。

综上所述, 脂肪酸中 PUFA, MUFA, SFA 三者在体内平衡, 各项目作为疾病的生物学指标具有重要价值, 其含量受到地域及饮食文化的影响尤其突出, 因此建立地区数据参考区间显得非常必要。脂肪酸含量在血清或血浆中检测易受饮食的影响, 所以在红细胞膜中检测, 稳定并能反映出一定时期机体内的变化。目前关于我国儿童群体红细胞中脂肪酸项目的研究报道甚少。本研究采用气相色谱-质谱法分析福州地区 0~3 岁健康儿童外周血红细胞膜中的脂质谱, 为评估儿童健康状况以及补充 omega-3 PUFA 提供科学依据, 为进一步建立中国健康人群脂肪酸的参考区间打下基础。

由于低龄儿童样本采集局限, 样本量过少, 结论还需大样本量数据支持。本研究作为预实验, 后续将以本研究结果为实验基础, 进一步阐述脂肪酸代谢与疾病的关系, 以此能为临床诊疗提供更好的途径。

参考文献:

- [1] ABEL S, RIEDEL S, GELDERBLUM W C A. Dietary

- PUFA and cancer [J]. the Proceedings of the Nutrition Society, 2014, 73(3): 361-367.
- [2] SANDERS T A B. Protective effects of dietary PUFA against chronic disease: evidence from epidemiological studies and intervention trials[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2014, 73(1):73-79.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing and Verifying reference intervals in the clinical laboratory-Third Edition[S]. Wayne: PA, CLSI EP28-A3c, 2010:12-20.
- [4] 季成叶, 马军, 何忠虎, 等. 中国汉族学龄儿童青少年腰围正常值 [J]. 中国学校卫生, 2010, 31(3): 257-259.
- JI Chengye, MA Jun, HE Zhonghu, et al. Reference norms of waist circumference for Chinese school-age children and adolescents [J]. Chinese Journal of School Health, 2010, 31 (3) : 257-259.
- [5] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [S]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- SHANG Hong, WANG Yusan, SHEN Ziyu. National Guide to Clinical Laboratory Procedures [S]. 4th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015.
- [6] 程雅婷, 李维, 赵蓓蓓, 等. 红细胞 omega-3 指数气相色谱-质谱检测方法的建立与应用 [J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(11): 768-770.
- CHENG Yating, LI Wei, ZHAO Beibei, et al. Establishment and application of gas chromatography-mass spectrometry for detection of omega-3 index in red blood cells [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2015, 38(11): 768-770.
- [7] BRADBERRY J C, HILLEMANN D E. Overview of omega-3 fatty acid therapies[J]. P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management, 2013, 38(11):681-691.
- [8] 孙翔宇, 高贵田, 段爱莉, 等. 多不饱和脂肪酸的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 418-423.
- SUN Xiangyu, GAO Guitian, DUAN Aili, et al. Research advance in polyunsaturated fatty acid [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(7): 418-423.
- [9] CALDER P C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes, effects, mechanisms and clinical relevance[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1851(4): 469-484.
- [10] CALDER P C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man[J]. Biochem Soc Trans, 2017, 45(5): 1105-1115.
- [11] GÓMEZ CANDELA C, BERMEJO LÓPEZ L M, et al. Importance of a balanced omega-6/omega-3 ratio for the maintenance of health: nutritional recommendations[J]. Nutr Hosp, 2011, 26(2): 323-329.
- [12] STRANDVIK B. The omega-6/omega-3 ratio is of importance[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2011, 85(6): 405-406.
- [13] KANG J X. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio in chronic diseases: animal models and molecular aspects[J]. World Rev Nutr Diet, 2011, 102: 22-29.
- [14] VON SCHACKY C. Omega-3 index and cardiovascular health[J]. Nutrients, 2014, 6(2): 799-814.
- [15] YERLIKAYA F H, MEHMETOĞLU I, KURBAN S, et al. Plasma fatty acid composition in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: an increased omega-6/omega-3 ratio and deficiency of essential fatty acids[J]. Renal failure, 2011, 33(8): 819-823.
- [16] UMEMOTO N, ISHII H, KAMOI D, et al. Reverse association of omega-3/omega-6 polyunsaturated fatty acids ratios with carotid atherosclerosis in patients on hemodialysis[J]. Atherosclerosis, 2016, 249: 65-69.
- [17] NEGGERS Y H, KIM E K, SONG Jumi, et al. Mental retardation is associated with plasma omega-3 fatty acid levels and the omega-3/omega-6 ratio in children[J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2009, 18(1): 22-28.
- [18] KANG J X, LIU A. The role of the tissue omega-6/omega-3 fatty acid ratio in regulating tumor angiogenesis[J]. Cancer metastasis reviews, 2013, 32(1/2): 201-210.

收稿日期: 2020-10-10

修回日期: 2020-10-29

(上接第76页)

- [20] 黄宜, 王文涓, 许静, 等. p2PSA 及其相关指标 PHI 在前列腺癌诊断中的应用价值 [J]. 检验医学, 2019, 34(7): 600-604.
- HUANG Yi, WANG Wenjuan, XU Jing, et al. Role of p2PSA and its related marker PHI in the diagnosis of prostate cancer[J]. Laboratory Medicine, 2019, 34(7): 600-604.
- [21] 黑炜翔, 杨宗盛, 夏成兴, 等. fPSA/TPSA, PSAD 联合多参数磁共振成像 PI-RADS 评分在诊断 PSA 灰区前列腺癌中的作用 [J]. 国际泌尿系统杂志, 2020, 40(2): 234-239.
- HEI Weixiang, YANG Zongsheng, XIA Chengxing, et al. The role of fPSA/TPSA, PSAD combined with multi-parameter magnetic resonance imaging

PI-RADS score in the diagnosis of PSA gray area prostate cancer[J]. International Journal of Urology and Nephrology, 2020, 40(2): 234-239.

- [22] 方建雄, 刘久敏, 蒲小勇, 等. 尿液中 CXCL16 联合 PSAD, fPSA% 对 PSA 灰区前列腺癌患者的诊断价值 [J]. 中华腔镜泌尿外科杂志 (电子版), 2020, 14(3): 171-175.
- FANG Jianxiong, LIU Jiumin, PU Xiaoyong, et al. Combined detection of CXCL16, PSAD and fPSA% for the clinical diagnosis of prostate cancer with PSA in diagnostic gray zone[J]. Chinese Journal of Endourology (Electronic Edition), 2020, 14(3): 171-175.

收稿日期: 2020-07-19

修回日期: 2020-08-02