

代谢组学在儿童囊性纤维化中的应用进展

向仕华^{1,2,3,4}, 彭东红^{1,2,3,4*}

¹重庆医科大学附属儿童医院呼吸科, 重庆

²国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 重庆

³儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 重庆

⁴儿科学重庆市重点实验室, 重庆

收稿日期: 2024年1月29日; 录用日期: 2024年2月23日; 发布日期: 2024年2月29日

摘要

囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)是一种以肺部疾病伴随多系统受累的遗传性疾病, 随着近年来对该病认识的提高及基因检测技术的发展, 更多的患儿被诊断出来, 但目前对该病的致病机制、诊断、治疗及预后仍处于研究中。代谢组学可以全面系统或有针对性地识别和量化生物样本中的代谢物, 对代谢物进行综合评估, 使之成为CF研究中的有利工具。本文就代谢组学在儿童CF中的应用进展进行综述, 重点概述代谢组学在CF患儿代谢产物特点、慢性炎症、病原学及急性加重期等方面的应用进展。

关键词

代谢组学, 囊性纤维化, 儿童, 应用进展

Progress in Application of Metabolomics in Childhood Cystic Fibrosis

Shihua Xiang^{1,2,3,4}, Donghong Peng^{1,2,3,4*}

¹Department of Respiratory Medicine, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

²National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Chongqing

³Ministry of Education Key Laboratory of Child Developmental Diseases, Chongqing

⁴Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing

Received: Jan. 29th, 2024; accepted: Feb. 23rd, 2024; published: Feb. 29th, 2024

Abstract

Cystic fibrosis (CF) is a hereditary disease characterized by pulmonary complications and system-

*通讯作者。

文章引用: 向仕华, 彭东红. 代谢组学在儿童囊性纤维化中的应用进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(2): 4267-4274.

DOI: 10.12677/acm.2024.142591

ic involvement. In recent years, advancements in the comprehension of CF, along with the evolution of genetic testing methodologies, have facilitated increased diagnoses in pediatric populations. However, various aspects including the disease's etiology, diagnostic approaches, therapeutic interventions, and prognostic factors remain subjects of ongoing research. The field of metabolomics presents a robust and systematic approach to comprehensively identify and quantify metabolites within biological samples. This capability allows for a comprehensive assessment of metabolite abundance, rendering it an invaluable tool in conducting research pertaining to cystic fibrosis. The present article provides a comprehensive overview of the advancements in metabolomics application for pediatric CF patients, with a specific focus on the characterization of metabolites, chronic inflammation, etiology, and acute exacerbation in children with CF.

Keywords

Metabolism, Cystic Fibrosis, Child, Application Progress

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)是一种常染色体隐性遗传病, 由于编码囊性纤维化跨膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)的基因突变致细胞表面膜传导调节蛋白表达减少或缺失, 进而引起钠离子和氯离子转运障碍, 最终导致黏液增多而阻塞气道、消化道、胰腺管腔、胆管、汗腺管及生殖管腔等, 因此出现反复呼吸道感染、胰腺功能不全、肝胆疾病、电解质紊乱、生长发育障碍及生殖功能受损等[1] [2], 中国 CF 患者最常表现为呼吸道受累, 其中又以鼻窦炎(33/71, 46.5%)和支气管扩张(67/71, 94.4%)最为常见[3]。

研究报道全球 94 个国家有 162,428 人患有 CF [4]。CF 在各地发病率有所差异, 在高加索人群中 CF 发病率最高[5] [6], 然而在我国尚无相关流行病学报道, 最新研究估计中国 CF 患病率范围为 1/153,825~1/110,127 [7]。另有一项研究估计中国 CF 的发病率约为 1/6400, 预计 CF 患者可能超过 2 万人[3]。随着近年来对该病认识的提高及基因检测技术的发展, 更多未被确诊的患儿被诊断出来。代谢组学是系统生物学的一个快速发展的领域, 其可以描述生物标本中的代谢产物, 提供机体内代谢活动的全面生理快照, 有助于识别疾病的生物标志物并阐明相关机制, 近几年在 CF 患儿中得到广泛的应用。现总结近年来代谢组学在 CF 儿童中的应用研究进展。

2. 代谢组学

代谢组学是试图全面系统或有针对性地识别和量化生物样本中相对分子质量通常<1.5 kDa 的代谢产物, 包括多肽、氨基酸、核酸、碳水化合物、有机酸、维生素、多酚、生物碱和无机物等[8] [9] [10], 由于能够检测和定量分析与 RNA、DNA 和蛋白质不同的小分子类化合物, 因此代谢组学为其他组学提供了可行的替代方案并对其进行补充[11], 同时它能提供体内细胞全面的“瞬间生理快照”, 因此比其他组学更具动态性, 能够在较短的时间里检测由生理或环境事件引起的代谢物变化[12] [13]。整合基因组学、转录组学、蛋白质组学、微生物组学和代谢组学, 可以更全面地以揭示生物体内的代谢途径, 了解细胞及个体生长、适应、发育和疾病的进展[14] [15] [16]。

代谢组学分为检测分析特定代谢物的靶向代谢组学和检测分析所有可检测化合物的非靶向代谢组学,前者最适合于验证特定的假设,后者最常用于产生假设的研究[11] [17] [18] [19],代谢组学所用的生物标本主要包括尿液、血浆、血清、脑脊液、精液、羊水、滑液、肠吸液、呼出的呼吸冷凝物(exhaled breath condensate, EBC)、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)、唾液、汗液、完整组织及其提取物以及体内细胞及其提取物[20] [21] [22]。代谢组学常用的技术平台包括质谱(mass spectroscopy, MS)和核磁共振波谱法(nuclear magnetic resonance, NMR)等[23] [24] [25],前者又分为液相色谱-质谱(liquid chromatography-mass spectroscopy, LC/MS)和气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS)[26],MS多用于靶向代谢组学,而NMR多用于非靶向代谢组学,不同的检测方式各有优缺点[27],目前仍不断有新的技术研发出来[28] [29]。样品通过上述方式进行检测后产生了大量复杂的原始数据,这些数据要经过预处理才能进行多变量统计,最广泛使用的统计技术是以无监督或有监督的方式提取潜在变量,无监督方法中主成分分析(principal component analysis, PCA)是最实用且最易应用的,而偏最小二乘判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)和正交 PLS-DA (orthogonal partial least squares discrimination analysis, O-PLS-DA)是常用的监督方法,两者通常用于鉴定生物标志物和不同样品组之间的差异[30]。非靶向代谢组学中产生了大量未知的代谢物,通常利用其质荷比值、色谱保留时间、同位素模式和片段化数据等特征与相关数据库中的标准品进行匹配和识别[31] [32] [33],最后进行代谢通路分析及通过富集分析评估各通路的重要性[11]。

3. 代谢组学在儿童 CF 中的应用

3.1. CF 患者与非 CF 患者的代谢组学研究

CF 患儿的确诊基于 CF 的特征性表现、CF 家族史、汗液氯离子或基因检测,但我国汗液试验尚未广泛开展[34] [35],故诊断上存在一定的困难,若能发现 CF 患儿特征性代谢产物及生物标志物,可协助 CF 的诊断及与其他疾病相鉴别。

Joseloff 等人[17]在 2014 年使用超高效液相色谱/串联质谱对 31 例 CF 和 31 例非 CF 患儿的血清进行代谢组学分析发现,在 459 种代谢产物中,有 92 种在 CF 和非 CF 患儿之间存在显著差异,与非 CF 患儿相比,CF 患儿血清中 3-羟基丁酸、中链肉碱、2-羟基丁酸、3-硫酸盐牛磺胆酸盐、硫酸甘胆酸盐、硫酸牛磺胆酸盐、胆红素和氧脯氨酸水平较低,二羧酸水平较高。其结果反映 CF 患儿可能在线粒体功能障碍和胆汁酸处理的异常。

Wisniewski 等人[36]在 2020 年为探讨二手烟暴露对 CF 患儿的影响,研究纳入 80 名患儿将其分为非 CF 组、CF 非二手烟暴露和 CF 二手烟暴露组,对他们的血浆样品进行高分辨率代谢组学分析发现,伴有二手烟暴露的 CF 患儿在类固醇合成、脂肪酸代谢和氧化应激相关的途径上发生了改变,亚油酸、棕榈酸、肉豆蔻酸、花生酸、亚牛磺酸和 5-羟基吡啶乙酸在内的几种代谢物在伴有二手烟暴露的 CF 儿童中表达降低,4-吡哆酸、肌基琥珀酸和泛酸表达增加。

Esther Jr.等人[18]在 2019 年对 46 名 CF 学龄前儿童和 16 名非 CF 对照组儿童的 BALF 进行了非靶向代谢组学和微生物组学分析,研究发现早期 CF 肺病的特征在于粘液负荷和炎症标志物增加,并发生于细菌感染或结构性肺病之前,粘液溶解剂和抗炎剂可能成为 CF 有效的预防性治疗[37]。

Scholte 等人[38]在 2019 年测定 33 名 CF 儿童和不明原因肺部炎症性疾病的 16 名非 CF 患者 BALF 中的一系列脂质,研究发现尽管两组 BALF 中中性粒细胞计数和细菌负荷相当,但 CF 患者的长链与极长链神经酰胺种类和溶血脂质水平比非 CF 患者高,且两者与炎症相关。神经酰胺前体鞘氨醇、鞘氨醇、鞘磷脂与炎症相关,未观察到脂质与当前细菌感染之间的相关性。

John B. O'Connor 等人[19]在 2022 年通过多组学网络分析方法整合靶向代谢组学、微生物组学数据

和表型指标分析 CF 患儿 BALF 气道微生物组和代谢组学特征之间的复杂关系, 与非 CF 患者相比, CF 患者的 BALF 具有显著更高浓度的氨基酸、L-甲硫氨酸 S-氧化物和更低浓度的酰基肉碱、甘油磷脂以及鞘磷脂, 使用代谢组学特征的随机森林分类在识别 CF 和非 CF 样品的准确度达 81.1%, 同时发现 CF 患者的强预测因子包括溶血磷脂酰胆碱、生物胺 L-甲硫氨酸 S-氧化物和酰基肉碱。

3.2. CF 患者气道炎症的代谢组学研究

由于 CFTR 基因突变引起钠离子和氯离子转运障碍, 氯离子、钠离子分泌减少导致支气管内分泌物脱水粘稠, 纤毛清除功能障碍, 同时粘稠的分泌物阻塞气道, 使肺部的细菌无法被清除, 从而导致肺部慢性感染, 在慢性感染的 CF 患者肺部存在严重的微生物群生态失调, 感染性病原体占主导, 为了应对这种复杂的多微生物感染, 气道上皮细胞、巨噬细胞及死亡的中性粒细胞产生和释放系列炎症介质, 包括 IL-8、IL-1、IL-17、肿瘤坏死因子 α 及释放大量氧化酶, 从而趋化、招募和介导中性粒细胞、巨噬细胞及其他免疫细胞释放炎症介质和脱颗粒作用, 促进 CF 气道的局部炎症反应及使炎症反应持续[39] [40]。即使在无病原菌感染的情况下, 炎症反应在 CF 患者中也是持续存在的[41]。

Wolak 等人[42]在 2009 年通过 $^1\text{H-NMR}$ 对 11 名不同炎症程度的 CF 患儿 BALF 进行代谢组学分析, 以细胞计数和分类将患儿分为低炎症和高炎症状态组, 研究表明高炎症状态的患儿 BALF 液中具有较高浓度的氨基酸、乳酸盐和丙酮, 确定了能体现两组差异的最重要的 7 种已知代谢物: 亮氨酸、乳酸、异亮氨酸、2-羟基异癸酸、丙氨酸、缬氨酸及丙酮, 同时研究也构建了一个预测性能非常好的 OPLS 模型, 能够实现组间的完全区分。

Esther Jr. 等人[18]在 2014 年使用靶向 MS 方法分析发现, BALF 中 338 个特征峰与嗜中性粒细胞炎症相关, 无论有无病原菌感染, 大多数代谢物与嗜中性粒细胞计数相关, 并能准确区分高炎症组和低炎症组, 其中许多代谢产物来自于嘌呤、多胺、蛋白质和烟酰胺相关的代谢途径。

John B. O'Connor 等人[19]在 2022 年发现有 50 个代谢组学特征与白细胞计数和中性粒细胞百分比相关性最强, 其中氨基酸与白细胞计数和中性粒细胞百分比呈正相关, 而甘油、甘油磷脂和酰基肉碱与其他的负相关最显著。

3.3. CF 患者肺部慢性感染的代谢组学研究

慢性感染是 CF 肺病的一个标志[43], 也是 CF 患者进行加重及肺功能进行性下降的主要原因, 因此确定 CF 感染期间代谢活跃的细菌和代谢物组成的相对丰度在诊断策略和制定抗生素治疗方案中是有意和必要的[44] [45]。将代谢组学结合微生物组学、基因组学, 能够揭示细菌群落、代谢组学特征和临床特征之间的复杂关系, 确定代谢活跃的微生物及其抗生素耐药机制, 从而帮助临床决策, 实现精确诊疗[46]。

Robroeks 等人[47]在 2010 年对 48 名 CF 患儿与 57 名健康对照的 EBC 的 VOCs 进行气相色谱 - 飞行时间质谱分析, 以区分 CF 患者是否有假单胞菌定植, 研究发现通过呼出的 14 种 VOCs 可以 100% 正确地鉴别出铜绿假单胞菌培养阳性或阴性的患儿。

John B. O'Connor 等人[19]在 2022 年通过多组学网络分析方法发现氨基酸与总细菌负荷呈正相关, 而甘油、甘油磷脂和酰基肉碱与其成负相关。应用稀疏监督典型相关分析揭示了 CF 和非 CF 之间相关性最强的亚网络, 包括传统 CF 病原体、葡萄球菌和非传统病原体、普雷沃菌、链球菌和韦荣球菌, 这些亚网络与 19 个代谢组学特征网络相关, 包括 8 种甘油磷脂, 6 种氨基酸, 2 种生物胺, 3 种酰基肉碱。同时 L-蛋氨酸 S-氧化物与厌氧分类群普雷沃菌、链球菌和韦荣球菌呈负相关, 与传统 CF 病原体葡萄球菌呈正相关。

Hahn 等人[48]在 2020 年通过代谢组学纵向分析一名 CF 患儿在 12 个月内收集的 14 个样本, 以研究不同临床疾病状态的代谢物及病原菌的变化, 最终研究鉴定了 466 种不同的挥发性代谢物。稳定状态和病情加重样品在化学组成上相当一致并且彼此相似, 而治疗样品高度可变并且与其他两种状态在化学组成上不同。同时研究观察到以葡萄球菌属和埃希氏菌属为主的样品与较高的醇相对丰相关, 而以无色杆菌属为主的样品与更多氧化挥发物相关。

3.4. CF 患者急性加重期的代谢组学研究

在 CF 患儿中, 急性肺部加重的频率和严重程度是肺功能加速下降和死亡率增加的重要决定因素, 因此早期干预可减少肺部急性加重, 但目前尚无预测肺部急性加重的方法, 因此需要更好的生物标志物来预测 CF 患儿急性肺部加重, 早期实施干预[49]。

Theresa A. Laguna 等人[50]在 2015 年应用非靶向的气相色谱质谱和液相色谱质谱分析了 25 名 CF 儿童和成人在急性加重期和临床稳定期的血浆样本和肺功能数据, 以识别 CF 患者血浆中 CF 急性加重的生物标志物, 研究共鉴定出 398 种代谢物, 最终鉴定出核苷酸(次黄嘌呤)、核苷(n4-乙酰胞苷)、氨基酸(n-乙酰蛋氨酸)、碳水化合物(甘露糖)和类固醇(皮质醇)等 5 种代谢紊乱的代谢物, 其具有区分急性加重期和临床稳定期的能力。

Montuschi, P.等人[51] [52]对稳定的 CF、不稳定 CF 患者的 EBC 进行代谢组学研究, 利用 PLS-DA 建立分类模型, 并对模型进行验证, 研究中所构建的模型对区分稳定型 CF 与不稳定型 CF 患者的准确率 达 95%, 而乙酸盐、乙醇、2-丙醇和甲醇是鉴别稳定和 不稳定 CF 患者的最重要代谢物。

Zang, X.等人[53] [54]应用超高效液相色谱-高分辨率质谱分析了临床稳定的 CF、急性加重期 CF、急性加重恢复期 CF 和急性加重前期 CF 的成人和儿童的 EBC 样本中的代谢产物, 研究发现与稳定的、急性肺加重前期和急性肺加重恢复期的样本相比, 急性加重患者样本中的乳酸显著升高, 亮氨酸/异亮氨酸从稳定的 CF 到急性加重前期儿童患者呈上升趋势, 从急性加重前期到急性加重期呈下降趋势, 可能与急性加重期应用抗生素有关。与稳定的 CF 患者相比, 丁酸、苹果酸和脯氨酸在急性加重前期中显著降低。对发生显著改变的代谢物进行通路分析发现, 脯氨酸代谢通路在急性加重期和急性加重前期的儿童中有显著变化, 丙酮酸代谢通路在急性加重期和稳定 CF 患者之间发生了显著变化, 通过建立 oPLS-DA 模型以区分急性加重期患儿与稳定 CF 患儿, 模型 的分类准确率为 84.6%, 急性加重前期患者和稳定 CF 患者的 oPLS-DA 模型的准确率为 90.5%。4-羟基环己基羧酸和焦谷氨酸可以将急性加重期 CF 患者与稳定的 CF 样品区分开来, 准确率为 84.6%。用乳酸和焦谷氨酸将急性肺加重前期 CF 患者样品与稳定 CF 样品进行区分, 准确率为 90.5%。乳酸被确定为预测即将发生急性肺加重事件的关键生物标志物。最后建立监督多变量分类模型, 其模型在检测急性加重期和预测即将到来的急性加重的准确率在 81.3%~93.9% 之间, AUC 值为 0.8~0.9, 为儿童患者的急性加重和预测急性加重的监测提供了思路。

4. 展望

随着医疗技术的进步, 更多的 CF 患儿被诊断出来, 同时 CF 患儿的生存寿命逐渐延长, 因此也对 CF 患儿的全程管理提出了新的挑战, CF 患儿基因型多样, 不同阶段 CF 患儿体内病原菌及机体状态有所不同, 故迫切需要针对 CF 患儿的更加个体化和精准的诊疗。代谢组学是全面系统、动态和有针对性地识别和量化生物样本中的代谢产物, 能够在较短的时间里检测代谢产物的变化, 同时结合微生物组学、蛋白组学等多组学, 从而可以更加全面了解机体内代谢产物与病原学的关系、发现 CF 发生发展机制及发现相关代谢通路。近几年, 国外将代谢组学应用于 CF 患儿生物标志物的发现、慢性感染、慢性炎症及急性期代谢物的变化, 为 CF 患儿的诊断、病情评估及靶向治疗提供新的思路。但目前国内由于 CF 患

儿病例数较少, 暂无代谢组学与 CF 的相关研究发表, 同时我国 CF 患儿往往具有与国外患儿不同的基因型和临床表现, 故未来需开展代谢组学与 CF 的相关研究以指导中国 CF 患儿的诊断和治疗。

参考文献

- [1] Dickinson, K.M. and Collaco, J.M. (2021) Cystic Fibrosis. *Pediatrics in Review*, **42**, 55-67. <https://doi.org/10.1542/pir.2019-0212>
- [2] Graeber, S.Y. and Mall, M.A. (2023) The Future of Cystic Fibrosis Treatment: From Disease Mechanisms to Novel Therapeutic Approaches. *The Lancet (London, England)*, **402**, 1185-1198. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01608-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01608-2)
- [3] Guo, X., Liu, K., Liu, Y., et al. (2018) Clinical and Genetic Characteristics of Cystic Fibrosis in CHINESE Patients: A Systemic Review of Reported Cases. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **13**, Article No. 224. <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0968-2>
- [4] Guo, J., Garratt, A. and Hill, A. (2022) Worldwide Rates of Diagnosis and Effective Treatment for Cystic Fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, **21**, 456-462. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2022.01.009>
- [5] O'Sullivan, B.P. and Freedman, S.D. (2009) Cystic Fibrosis. *The Lancet (London, England)*, **373**, 1891-1904. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60327-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60327-5)
- [6] Sanders, D.B. and Fink A.K. (2016) Background and Epidemiology. *Pediatric Clinics of North America*, **63**, 567-584. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2016.04.001>
- [7] Ni, Q., Chen, X., Zhang, P., et al. (2022) Systematic Estimation of Cystic Fibrosis Prevalence in Chinese and Genetic Spectrum Comparison to Caucasians. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **17**, Article No. 129. <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02279-9>
- [8] Clayton, T.A., Lindon, J.C., Cloarec, O., et al. (2006) Pharmaco-Metabonomic Phenotyping and Personalized Drug Treatment. *Nature*, **440**, 1073-1077. <https://doi.org/10.1038/nature04648>
- [9] Nicholson, J.K. and Lindon, J.C. (2008) Systems Biology: Metabonomics. *Nature*, **455**, 1054-1056. <https://doi.org/10.1038/4551054a>
- [10] Arakaki, A.K., Skolnick, J. and McDonald, J.F. (2008) Marker Metabolites Can Be Therapeutic Targets as Well. *Nature*, **456**, 443. <https://doi.org/10.1038/456443c>
- [11] Stringer, K.A., McKay, R.T., Karnovsky, A., et al. (2016) Metabolomics and Its Application to Acute Lung Diseases. *Frontiers in Immunology*, **7**, Article 44. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00044>
- [12] Wishart, D.S. (2005) Metabolomics: The Principles and Potential Applications to Transplantation. *American Journal of Transplantation*, **5**, 2814-2820. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2005.01119.x>
- [13] Wishart, D.S. (2010) Computational Approaches to Metabolomics. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, **593**, 283-313. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-194-3_14
- [14] Pinu, F.R., Beale, D.J., Paten, A.M., et al. (2019) Systems Biology and Multi-Omics Integration: Viewpoints from the Metabolomics Research Community. *Metabolites*, **9**, Article 76. <https://doi.org/10.3390/metabo9040076>
- [15] Heckendorf, C., Blum, B.C., Lin, W., et al. (2023) Integration of Metabolomic and Proteomic Data to Uncover Actionable Metabolic Pathways. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, **2660**, 137-148. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3163-8_10
- [16] Chetty, A. and Blekhman, R. (2024) Multi-Omic Approaches for Host-Microbiome Data Integration. *Gut Microbes*, **16**, Article 2297860. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2297860>
- [17] Joseloff, E., Sha, W., Bell, S.C., et al. (2014) Serum Metabolomics Indicate Altered Cellular Energy Metabolism in Children with Cystic Fibrosis. *Pediatric Pulmonology*, **49**, 463-472. <https://doi.org/10.1002/ppul.22859>
- [18] Esther Jr., C.R., Coakley, R.D., Henderson, A.G., et al. (2015) Metabolomic Evaluation of Neutrophilic Airway Inflammation in Cystic Fibrosis. *Chest*, **148**, 507-515. <https://doi.org/10.1378/chest.14-1800>
- [19] O'Connor, J.B., Mottlowitz, M., Kruk, M.E., et al. (2022) Network Analysis to Identify Multi-Omic Correlations in the Lower Airways of Children with Cystic Fibrosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **12**, Article 805170. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.805170>
- [20] Beckonert, O., Keun, H.C., Ebbels, T.M., et al. (2007) Metabolic Profiling, Metabolomic and Metabonomic Procedures for NMR Spectroscopy of Urine, Plasma, Serum and Tissue Extracts. *Nature Protocols*, **2**, 2692-2703. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.376>
- [21] Griffin, J.L. and Kauppinen, R.A. (2007) Tumour Metabolomics in Animal Models of Human Cancer. *Journal of Prote-*

- ome Research, **6**, 498-505. <https://doi.org/10.1021/pr060464h>
- [22] Mena-Bravo, A. and Luque de Castro, M.D. (2014) Sweat: A Sample with Limited Present Applications and Promising Future in Metabolomics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **90**, 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.10.048>
- [23] Serkova, N.J., Standiford, T.J. and Stringer, K.A. (2011) The Emerging Field of Quantitative Blood Metabolomics for Biomarker Discovery in Critical Illnesses. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **184**, 647-655. <https://doi.org/10.1164/rccm.201103-0474CI>
- [24] Alonso, A., Marsal, S. and Julià A. (2015) Analytical Methods in Untargeted Metabolomics: State of the Art in 2015. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **3**, Article 23. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00023>
- [25] Sas, K.M., Karnovsky, A., Michailidis, G., et al. (2015) Metabolomics and Diabetes: Analytical and Computational Approaches. *Diabetes*, **64**, 718-732. <https://doi.org/10.2337/db14-0509>
- [26] More, T., RoyChoudhury, S., Gollapalli, K., et al. (2015) Metabolomics and Its Integration with Systems Biology: PSI 2014 Conference Panel Discussion Report. *Journal of Proteomics*, **127**, 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.04.024>
- [27] Markley, J.L., Brüschweiler, R., Edison, A.S., et al. (2017) The Future of NMR-Based Metabolomics. *Current Opinion in Biotechnology*, **43**, 34-40. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.08.001>
- [28] Basov, N.V., Rogachev, A.D., Aleshkova, M.A., et al. (2024) Global LC-MS/MS Targeted Metabolomics Using a Combination of HILIC and RP LC Separation Modes on an Organic Monolithic Column Based on 1-Vinyl-1,2,4-Triazole. *Talanta*, **267**, Article 125168. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125168>
- [29] Bansal, N., Kumar, M. and Gupta, A. (2024) Richer than Previously Probed: An Application of ^1H NMR Reveals One Hundred Metabolites Using Only Fifty Microliter Serum. *Biophysical Chemistry*, **305**, Article 107153. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2023.107153>
- [30] Bjerrum, J.T. (2015) Metabonomics: Analytical Techniques and Associated Chemometrics at a Glance. In: Bjerrum, J., Ed., *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, Vol. 1277, Humana Press, New York, 1-14. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2377-9_1
- [31] Zamboni, N., Saghatelian, A. and Patti, G.J. (2015) Defining the Metabolome: Size, Flux, and Regulation. *Molecular Cell*, **58**, 699-706. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.04.021>
- [32] Yurekten, O., Payne, T., Tejera, N., et al. (2024) MetaboLights: Open Data Repository for Metabolomics. *Nucleic Acids Research*, **52**, D640-D646. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1045>
- [33] Wishart, D.S., Kruger, R., Sivakumaran, A., et al. (2024) PathBank 2.0—The Pathway Database for Model Organism Metabolomics. *Nucleic Acids Research*, **52**, D654-D662. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1041>
- [34] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 中华医学会儿科学分会呼吸学组疑难少见病协作组, 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心等. 中国儿童囊性纤维化诊断与治疗专家共识[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2022, 37(22): 1681-1687.
- [35] 田欣伦. 中国人囊性纤维化[J]. 中国实用儿科杂志, 2023, 38(3): 204-209.
- [36] Wisniewski, B.L., Shrestha, C.L., Zhang, S., et al. (2020) Metabolomics Profiling of Tobacco Exposure in Children with Cystic Fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, **19**, 791-800. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2020.05.003>
- [37] Esther Jr., C.R., Muhlebach, M.S., Ehre, C., et al. (2019) Mucus Accumulation in the Lungs Precedes Structural Changes and Infection in Children with Cystic Fibrosis. *Science Translational Medicine*, **11**. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav3488>
- [38] Scholte, B.J., Horati, H., Veltman, M., et al. (2019) Oxidative Stress and Abnormal Bioactive Lipids in Early Cystic Fibrosis Lung Disease. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, **18**, 781-789. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2019.04.011>
- [39] Zemanick, E.T., Sagel, S.D. and Harris, J.K. (2011) The Airway Microbiome in Cystic Fibrosis and Implications for Treatment. *Current Opinion in Pediatrics*, **23**, 319-324. <https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32834604f2>
- [40] Elizur, A., Cannon, C.L. and Ferkol, T.W. (2008) Airway Inflammation in Cystic Fibrosis. *Chest*, **133**, 489-495. <https://doi.org/10.1378/chest.07-1631>
- [41] Lepissier, A., Addy, C., Hayes, K., et al. (2022) Inflammation Biomarkers in Sputum for Clinical Trials in Cystic Fibrosis: Current Understanding and Gaps in Knowledge. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*, **21**, 691-706. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.10.009>
- [42] Wolak, J.E., Esther Jr., C.R., and O'Connell, T.M. (2009) Metabolomic Analysis of Bronchoalveolar Lavage Fluid from Cystic Fibrosis Patients. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, **14**, 55-60. <https://doi.org/10.1080/13547500802688194>

-
- [43] Nichols, D., Chmiel, J. and Berger, M. (2008) Chronic Inflammation in the Cystic Fibrosis Lung: Alterations in Inter- and Intracellular Signaling. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, **34**, 146-162. <https://doi.org/10.1007/s12016-007-8039-9>
- [44] Twomey, K.B., Alston, M., An, S.Q., *et al.* (2013) Microbiota and Metabolite Profiling Reveal Specific Alterations in Bacterial Community Structure and Environment in the Cystic Fibrosis Airway During Exacerbation. *PLOS ONE*, **8**, e82432. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082432>
- [45] Hu, Y. and Coates, A. (2012) Nonmultiplying Bacteria Are Profoundly Tolerant to Antibiotics. In: Coates, A., Ed., *Antibiotic Resistance. Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 211, Springer, Berlin, Heidelberg, 99-119. https://doi.org/10.1007/978-3-642-28951-4_7
- [46] Quinn, R.A., Phelan, V.V., Whiteson, K.L., *et al.* (2016) Microbial, Host and Xenobiotic Diversity in the Cystic Fibrosis Sputum Metabolome. *The ISME Journal*, **10**, 1483-1498. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.207>
- [47] Robroeks, C.M., Van Berkel, J.J., Dallinga, J.W., *et al.* (2010) Metabolomics of Volatile Organic Compounds in Cystic Fibrosis Patients and Controls. *Pediatric Research*, **68**, 75-80. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181df4ea0>
- [48] Hahn, A., Whiteson, K., Davis, T.J., *et al.* (2020) Longitudinal Associations of the Cystic Fibrosis Airway Microbiome and Volatile Metabolites: A Case Study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**, Article 174. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00174>
- [49] Bhatt, J.M. (2013) Treatment of Pulmonary Exacerbations in Cystic Fibrosis. *European Respiratory Review: An Official Journal of the European Respiratory Society*, **22**, 205-216. <https://doi.org/10.1183/09059180.00006512>
- [50] Laguna, T.A., Reilly, C.S., Williams, C.B., *et al.* (2015) Metabolomics Analysis Identifies Novel Plasma Biomarkers of Cystic Fibrosis Pulmonary Exacerbation. *Pediatric Pulmonology*, **50**, 869-877. <https://doi.org/10.1002/ppul.23225>
- [51] Montuschi, P., Paris, D., Melck, D., *et al.* (2012) NMR Spectroscopy Metabolomic Profiling of Exhaled Breath Condensate in Patients with Stable and Unstable Cystic Fibrosis. *Thorax*, **67**, 222-228. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2011-200072>
- [52] Montuschi, P., Paris, D., Montella, S., *et al.* (2014) Nuclear Magnetic Resonance-Based Metabolomics Discriminates Primary Ciliary Dyskinesia from Cystic Fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **190**, 229-233. <https://doi.org/10.1164/rccm.201402-0249LE>
- [53] Zang, X., Monge, M.E., McCarty, N.A., *et al.* (2017) Feasibility of Early Detection of Cystic Fibrosis Acute Pulmonary Exacerbations by Exhaled Breath Condensate Metabolomics: A Pilot Study. *Journal of Proteome Research*, **16**, 550-558. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00675>
- [54] Zang, X., Monge, M.E., Gaul, D.A., *et al.* (2020) Early Detection of Cystic Fibrosis Acute Pulmonary Exacerbations by Exhaled Breath Condensate Metabolomics. *Journal of Proteome Research*, **19**, 144-152. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00443>