

文章编号:1003-2754(2019)07-0632-06

# 急性脑梗死患者血浆代谢物的相关性分析

由 杨, 段克非, 杨 锐

**摘要:** **目的** 探讨血浆代谢物与脑梗死发病的相关性。**方法** 回顾性连续纳入 2017 年 5 月~2018 年 11 月就诊于锦州医科大学附属第一医院接受头部核磁共振成像(MRI)检查的 340 例住院患者。根据头部 MRI 是否存在新发脑梗死,分为两组:急性脑梗死组、正常对照组。应用串联质谱法方法检测血浆中 93 个代谢指标,应用正交偏最小二乘判别分析法(OPLS-DA)、ROC 曲线和 Logistic 回归筛选出两组的差异性代谢物。**结果** 8 个血浆代谢指标和综合指标 N 与脑梗死发病显著相关,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。各指标在 ROC 曲线下面积分别为:N(0.977)、Arg(0.833)、Cit/Arg(0.828)、C4DC(0.725)、C18:1(0.787)、C4/C8(0.787)、Met/Phe(0.725)、C26(0.794)、Leu(0.704)。**结论** 亮氨酸、瓜氨酸、精氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、肉碱等可能参与脑梗死的发病机制,研究其代谢过程可能为脑梗死的治疗提供新的临床方向。

**关键词:** 脑梗死; 代谢组学; 串联质谱; 支链氨基酸; 肉碱

**中图分类号:**R743 **文献标识码:**A

**Correlation between plasma metabolites in patients with acute cerebral infarction** YOU Yang, DUAN Kefei, YANG Rui. (Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the correlation between plasma metabolites and cerebral infarction. **Methods** A retrospective review was performed on 340 consecutive inpatients admitted to the first affiliated hospital of jinzhou medical university for head MRI examination from May 2017 to November 2018. According to the presence of new cerebral infarction in the head MRI, they were divided into two groups: acute cerebral infarction group and normal control group. The plasma metabolites were used to detect 93 metabolic markers. Orthogonal partial least-squares discriminant analysis (OPLS-DA), ROC curve and logistic regression were used to screen the differential metabolites. **Results** Eight plasma metabolic markers and comprehensive index N were significantly associated with cerebral infarction, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The areas under the ROC curve for each indicator are: N (0.977), Arg (0.833), Cit/Arg (0.828), C4DC (0.725), C18:1 (0.787), C4/C8 (0.787), Met/Phe (0.725), C26 (0.794), and Leu (0.704). **Conclusion** Leucine, citrulline, arginine, methionine, phenylalanine and carnitine may be involved in the pathogenesis of cerebral infarction. Studying its metabolic process may provide a new clinical direction for the treatment of cerebral infarction.

**Key words:** Cerebral infarction; Metabolomics; Tandem mass spectrometry; Branched chain amino acids; Carnitine

脑梗死是一种常见的具有高复发率、高致残率、高死亡率特点的脑血管疾病<sup>[1]</sup>。而急性缺血性脑卒中占脑梗死中的 60%~80%,它是由于各种原因导致脑组织血液供应障碍,并由此产生脑组织缺血缺氧性坏死,进而出现神经功能障碍的一组综合征<sup>[2]</sup>,给人们的生活质量带来极大的影响,故发现一些操作简单,快速可靠且具有临床预测价值的生物学标记物显得尤为重要。

代谢组学(metabolomics)是继基因组学和蛋白质组学后,致力于研究整个生物体的动态代谢状态,被定义为“生物体对病理生理刺激或基因改变而产生的代谢物质变化的定量测定”,是由 Nicholson<sup>[3]</sup>

早期所提出。该组学采用化学计量方法分析疾病导致的某些代谢物的改变,判断疾病组和正常对照组差异,了解疾病的代谢途径,寻找与疾病相关的生物标记物,从而对疾病的辅助诊断与治疗提供帮助。据报道,代谢组学技术应用于多种疾病的诊断与治疗中,如糖尿病肾病<sup>[4]</sup>、结核病<sup>[5]</sup>、胃肠道肿瘤<sup>[6]</sup>等疾病。然而目前,应用基于代谢组学分析的串联质

收稿日期:2019-05-25;修订日期:2019-06-20

作者单位:(锦州医科大学附属一院神经内科,辽宁 锦州 121000)

通讯作者:杨 锐, E-mail: yangruilvcha@sohu.com

谱技术探讨血浆代谢物浓度改变与脑梗死发病的相关性文献相对少见。本文通过分析脑梗死组和对照组的代谢谱,寻找两组间的差异性代谢物。发现具有预测价值的代谢标记物,可以加深我们对疾病的认识,进而为临床治疗提供新的思路。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究主要纳入2017年5月~2018年11月就诊于锦州医科大学附属第一医院的患者,分为研究组和对照组。急性脑梗死患者入选标准参照《中国急性缺血性脑卒中指南诊断标准2014》<sup>[7]</sup>,本研究中脑梗死组患者入选标准:(1)急性神经功能缺损症状出现小于1w;(2)头部核磁共振弥散加权成像(DWI)确定为新发脑梗死;(3)美国国立卫生研究院卒中评分量表(National Institute of Health Stroke Scale,NIHSS)<sup>[8]</sup>分数大于4分。对照组患者入选标准:(1)同期同年龄段健康体检者;(2)无神经功能缺损症状;(3)头部CT/MRI排除近期梗死病灶。排除标准为:(1)脑出血(包括出血性脑梗死、脑室出血、蛛网膜下腔出血或硬膜外血肿等)患者;(2)存在感染、创伤、昏迷;(3)严重肝肾疾病及恶性肿瘤;(4)近期大手术。本研究经锦州医科大学附属一院伦理委员会审查和批准,所有受试者均为自愿参与本研究,并签署知情同意书。

1.2 研究方法 所有受试者上午7时左右(住院患者入院次日),于空腹条件下采集指尖血,滴入串联质谱仪(AB SCIEX 4000)检测专用滤纸片的3个孔板中,形成直径大于8mm且分布均匀的血斑,晾干后送检。应用串联质谱仪对所有样本进行代谢组学分析,样品检测方法详见参考文献<sup>[9]</sup>,共测得93个指标(包括23种氨基酸、35种肉碱和35个比值)。详细询问并记录受试者一般临床资料(年龄、性别、既往史、吸烟史和饮酒史)。

1.3 统计学方法 采用SPSS 23.0、SIMCA-P14.0和R3.5.1统计学软件进行分析数据。采用 $\chi^2$ 检验或独立样本 $t$ 检验比较两组间一般资料。连续性变量用 $\bar{x} \pm s$ ,组间比较用 $t$ 检验;分类变量用百分比表示,组间比较用 $\chi^2$ 检验。对所有代谢指标先行UV标度化预处理,再应用正交偏最小二乘(OPLS-DA)判别分析,并用Permutation试验验证OPLS-DA模型的有效性。VIP值>1.0(重要性变

量)被认为是具有意义的变量。对93个指标逐一进行独立样本 $t$ 检验和ROC曲线分析,筛选出 $P < 0.01$ 和 $AUC > 0.7$ 的指标。将共同满足 $VIP > 1.0$ 、 $AUC > 0.7$ 及 $P < 0.01$ 3个条件的指标,采用Logistic回归进一步分析,纳入模型中的指标与脑梗死发病具有显著相关性。该模型预测准确性再通过ROC曲线进行表达。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

### 2 结果

2.1 患者临床资料 本研究纳入340例患者,其中研究组200例,对照组140例。患者的一般临床资料见表1。

2.2 OPLS-DA回归模型 应用OPLS-DA方法分别对对照组和研究组患者血浆代谢物数据进行分析,得到相应的散点分布图(见图1)。对照组和研究组沿横轴( $t$ 轴)方向能明显分开( $R^2Y = 0.583$ 、 $Q^2Y = 0.636$ ),说明其预测能力和解释能力较强。本研究中Permutation试验证明累计的 $R^2$ 和 $Q^2$ 值(左下部)明显低于原始的 $R^2$ 和 $Q^2$ (右上部)(见图2)。可以证实OPLS-DA模型是稳定的、有效的。[截距: $R^2(0.0, 0.176)$ 、 $Q^2(0.0, -0.295)$ ]。

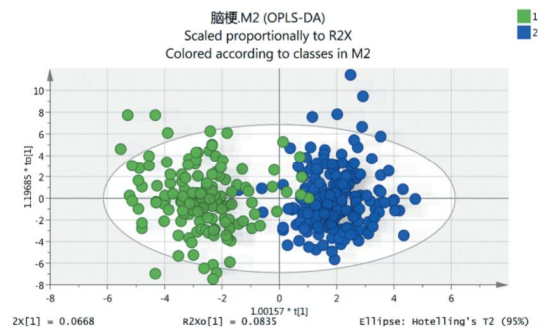


图1 OPLS-DA散点图(1.脑梗死组:绿色;2.对照组:蓝色)

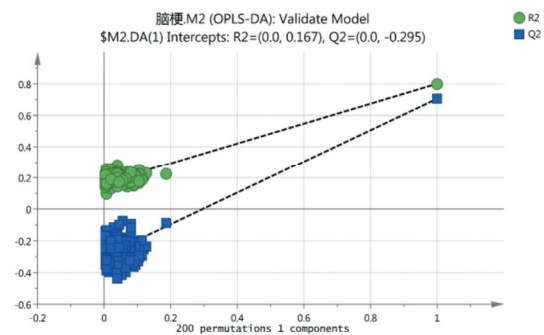


图2 Permutation实验

2.3 筛选组间差异性代谢物 筛选血浆中 93 个代谢物指标。共同满足 VIP > 1.0、AUC > 0.7、P < 0.01 条件的指标共 13 个(见表 2)。分别是 Arg、C26、Cit/Arg、C3DC、C18:1、C10:1、C4/C8、Met/Phe、C5-OH/C8、Leu、C4DC、C16:1-OH、C14:2。

2.4 筛选与脑梗死发病的相关性代谢物 进一步筛选与脑梗死相关的差异性代谢物,将表 2 中的 13 个代谢物纳入 Logistical 回归模型,筛选出差异性指标(P < 0.05)。最终有 8 个指标纳入模型,分别是 Leu、Cit/Arg、Arg、Met/Phe、C4/C8、C4DC、C18:1、C26。并得到回归方程式  $Y = 4.353 * C18:1 + 0.012 * Leu - 0.748 * C4/C8 + 0.620 * Cit/Arg -$

$0.235 * Arg + 8.461 * Met/Phe - 3.474 * C4DC + 70.484 * C26 - 10.285$ 。根据此方程式,我们计算一个综合性指标 N。筛选出的 8 个代谢物和综合性指标 N 在两组间的表达量详见小提琴图(见图 3)和相关性圈图(见图 4)。

2.5 检验模型预测疾病的准确性 应用 ROC 曲线图预测模型的精准性。其 AUC 值越大,代表模型预测的准确性越高(见图 5)。设定的新指标 N 为 8 种代谢物的综合性指标,其 AUC 值为 0.977,大于其他所有代谢物的 AUC 值,提示结合多种代谢物会提高对疾病的诊断价值。

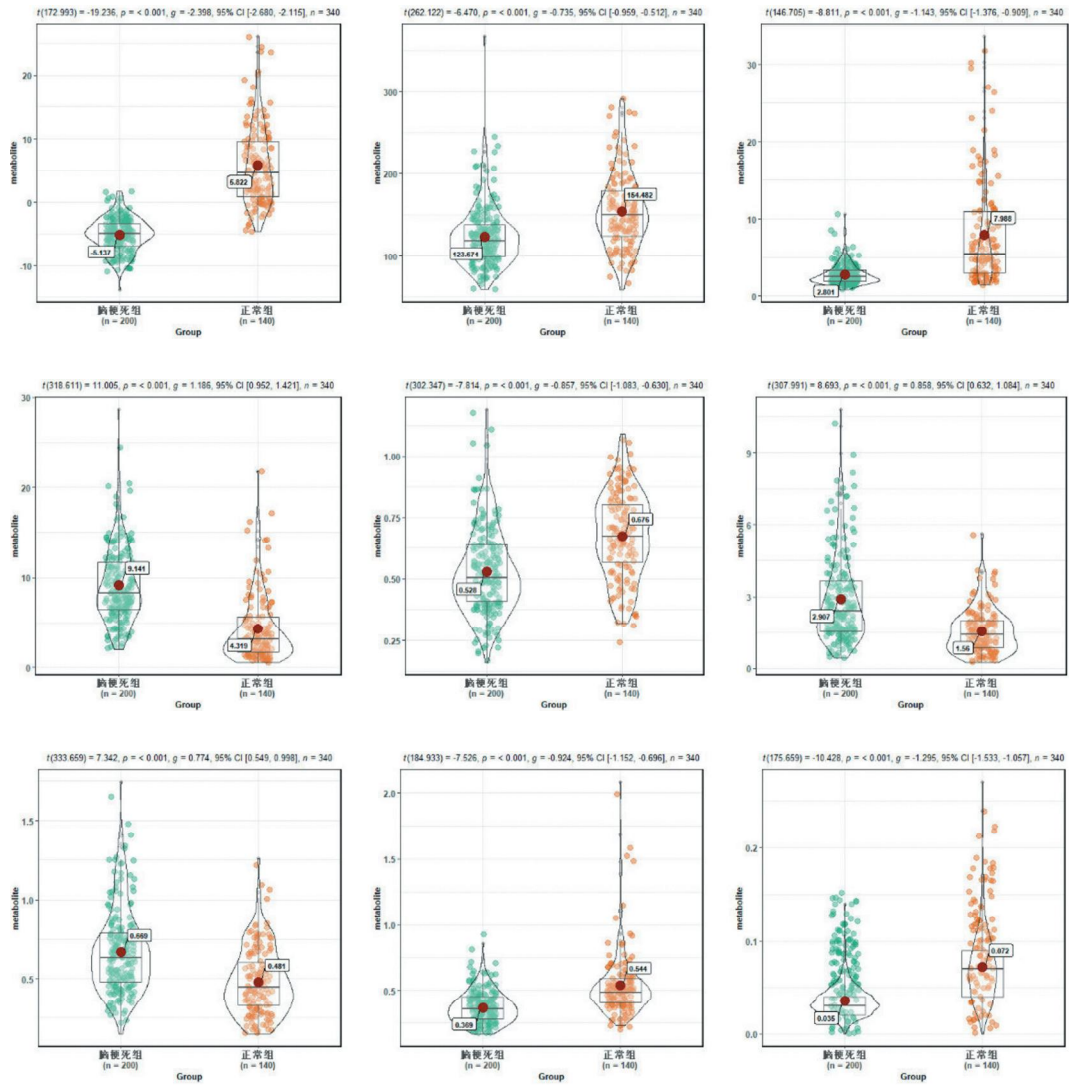
表 1 患者一般临床资料

	对照组(n=140)	研究组(n=200)	统计量	P 值
年龄(岁)	61.6 ± 13.2	61.1 ± 10.8	t = 0.153 <sup>b</sup>	0.725
女[例(%)]	59(42.1%)	71(35.5%)	χ <sup>2</sup> = 1.539 <sup>a</sup>	0.215
糖尿病[例(%)]	33(23.6%)	59(29.5%)	χ <sup>2</sup> = 1.467 <sup>a</sup>	0.226
高血压[例(%)]	83(59.3%)	129(64.5%)	χ <sup>2</sup> = 0.954 <sup>a</sup>	0.329
吸烟[例(%)]	48(35.0%)	91(45.5%)	χ <sup>2</sup> = 3.749 <sup>a</sup>	0.053
饮酒[例(%)]	47(33.6%)	89(44.5%)	χ <sup>2</sup> = 4.098 <sup>a</sup>	0.043

注:a 应用卡方检验;b 应用独立样本 t 检验

表 2 筛选两组主要差异指标

名称	缩写	AUC 值	VIP 值	P 值
精氨酸	Arg	0.836	1.8018	1.628 × 10 <sup>-23</sup>
二十六碳酰基肉碱	C26	0.833	1.77239	4.025 × 10 <sup>-20</sup>
瓜氨酸/精氨酸	Cit/Arg	0.819	1.71498	3.2553 × 10 <sup>-15</sup>
丙二酰基肉碱	C3DC	0.805	1.69808	3.2558 × 10 <sup>-17</sup>
十八碳烯酰基肉碱	C18:1	0.773	1.43519	2.2246 × 10 <sup>-12</sup>
	C10:1	0.755	1.59684	4.0988 × 10 <sup>-13</sup>
	C4/C8	0.747	1.47099	2.1351 × 10 <sup>-16</sup>
甲硫氨酸/苯丙氨酸	Met/Phe	0.736	1.43193	8.2608 × 10 <sup>-14</sup>
	C5OH/C8	0.727	1.1109	6.7792 × 10 <sup>-9</sup>
亮氨酸	Leu	0.718	1.41515	4.7767 × 10 <sup>-10</sup>
丁二酰基肉碱	C4DC	0.715	1.30358	1.623 × 10 <sup>-12</sup>
	C16:1-OH	0.712	1.41652	2.988 × 10 <sup>-10</sup>
	C14:2	0.706	1.43455	1.6963 × 10 <sup>-10</sup>



由左上至右下指标分别为: N、Leu、Cit/Arg、Arg、Met/Phe、C4/C8、C4DC、C18:1、C26

图3 小提琴图

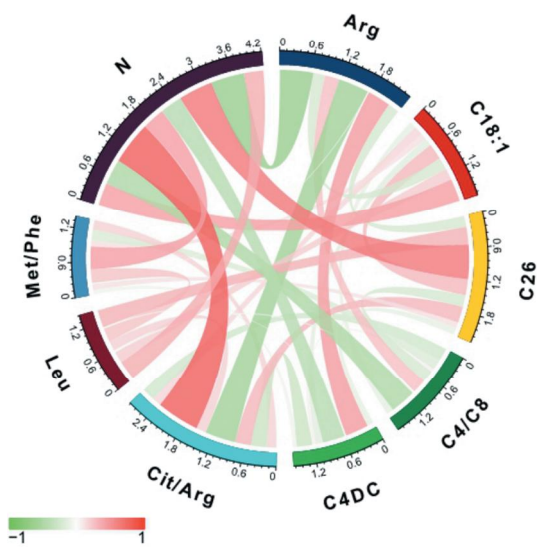


图4 相关性圈图

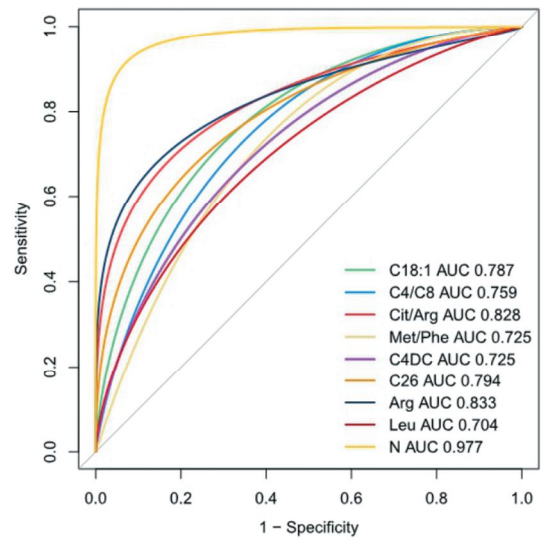


图5 ROC曲线

### 3 讨论

多年来,脑梗死的发病率及病死率在全球范围内始终居高不下,寻找新的诊治方案迫在眉睫。近年来,代谢组学是一种很有前途的检测方法,广泛的应用于各种疾病的诊治。因此,本研究选定氨基酸和肉碱为相关的代谢物,并对其量化,比较研究组与对照组之间代谢谱差异,为疾病早期而准确的诊断提供有力的帮助。

本研究对血浆代谢物进行多次筛选,最终得到8个指标与脑梗死密切相关,分别是:亮氨酸、精氨酸、瓜氨酸/精氨酸、甲硫氨酸/苯丙氨酸、C18:1、C26、C4DC、C4/C8。本文结果显示亮氨酸、瓜氨酸/精氨酸、甲硫氨酸/苯丙氨酸、C18:1、C26含量在脑梗死组较低,而精氨酸、C4DC、C4/C8含量较高。

3.1 氨基酸:亮氨酸、精氨酸、瓜氨酸/精氨酸、甲硫氨酸/苯丙氨酸 亮氨酸:亮氨酸为生酮氨基酸,也是支链氨基酸 (branched chain amino acids, BCAA),包括亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸,是直接或间接影响代谢的重要营养信号<sup>[10]</sup>。亮氨酸越来越多的应用于脑血管疾病的诊治中,为疾病提供可靠的信息。其机制可能为亮氨酸代谢酶基因的表达存在异常,从而导致血浆亮氨酸水平升高<sup>[11]</sup>。Kimberly等<sup>[12]</sup>发现无论是人或者动物的缺血性脑卒中,亮氨酸水平都有所下降<sup>[13]</sup>。同样 Lee等<sup>[14]</sup>研究发现,在急性缺血性卒中患者的血浆和脑脊液中观察到支链氨基酸水平下降。以上研究结果均与本文研究结果相一致。此外,Nachbaue等<sup>[15]</sup>发现对术后、创伤和各种疾病患者,运用合适的亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸比例的氨基酸液能明显改善氮平衡营养状况,从而有利于患者的伤口愈合和机体恢复。

精氨酸 (Arg)、瓜氨酸/精氨酸 (Cit/Arg):本文中 Cit/Arg 在脑梗死组含量低,而 Arg 含量高。研究表明在瓜氨酸和一氧化氮 (NO) 之间存在一种动态平衡称作瓜氨酸-一氧化氮循环<sup>[16]</sup>。当 Arg 缺乏,NO 合成会减少,机体将加快对 Arg 转运以促进 NO 合成,来满足机体正常代谢需求,当 NO 合成速率加快,终产物 NO 和 Cit 生成增多,过多的终产物若不及时清除,将导致 Cit 堆积,堆积的 Cit 与 Arg 相互竞争酶的结合位点,从而抑制 NO 生成,最终导致 NO、

Cit 生成均下降。Cherian<sup>[17]</sup>和丁俊丽<sup>[18]</sup>发现在大鼠脑缺血早期使用左旋精氨酸可以加速缺血区域 NO 含量,对脑起保护作用。本研究得出的结果可能与氨基酸代谢途径异常或 Cit-NO 循环被破坏相关。此外,NO 属于一类重要的内皮功能舒张调节因子,其与高血压的发生发展过程密切相关<sup>[19]</sup>,同时 NO 可产生过多的氧自由基,加重血管内皮细胞损伤<sup>[20]</sup>。

甲硫氨酸/苯丙氨酸 (Met/Phe):本文研究结果提示,在脑梗死组 Met/Phe 含量低。甲硫氨酸参与甲硫氨酸循环,在此循环中甲硫氨酸提供 SAM, SAM 转甲基后转变为 SAH,进一步水解生成同型半胱氨酸, Hcy 可促进动脉粥样硬化发生及血栓形成<sup>[21]</sup>,促进脑梗死形成。苯丙氨酸为芳香族氨基酸。研究发现,血液中苯丙氨酸水平增高,脑电图异常率明显增高,不同程度的增加脑缺血的发生<sup>[22]</sup>。邹卉等<sup>[23]</sup>发现高苯丙氨酸加重患儿脑缺血和不同程度的脑损伤。结合上文所述,低水平的 Met、Phe 或 Met/Phe 可能对人体有利,可能会减少脑梗死的发生。

3.2 肉碱:长链酰基肉碱 (C18:1、C26)、短链酰基肉碱 (C4DC、C4/C8) 人体内肉碱根据碳含量可分为长链酰基肉碱和短链酰基肉碱,主要存在于心肌、骨骼肌等肌肉中。研究指出,肉碱有重要生理的作用:(1)参与脂肪酸  $\beta$  氧化,提高代谢率;(2)抗氧化作用;(3)参与支链氨基酸代谢<sup>[24]</sup>。本文研究显示在脑梗死组 C18:1、C26 较低,而 C4DC、C4/C8 较高。在脂肪酸  $\beta$  氧化中,若肉碱 (CO) 缺乏或肉碱转移酶异常,将导致脂质代谢障碍,加重微小血管损害,有可能诱发脑梗死。Deutsch等<sup>[24]</sup>研究得出长链酰基肉碱含量在脑梗死组和正常组大鼠脑之间没有差异。Slivka等<sup>[25]</sup>研究表明长链酰基肉碱含量未改变也未减少脑梗死面积的大小。以上均与本文研究结果有所差异,具体机制仍需进一步探讨。Rousseau等<sup>[26]</sup>研究发现在缺血时,短链酰基肉碱含量有所增加,且与血浆支链氨基酸 (BCAA) 水平显著相关,且  $P < 0.001$ ,对脑细胞起保护作用,减少脑缺血的发生。与本文研究结果一致。此外,国外有研究发现左旋肉碱和乙酰化衍生物乙酰基左旋肉碱可以改善成人、新生儿和小儿脑损伤模型中的能量状态,

减少氧化应激并防止随后的细胞死亡。

综上所述,亮氨酸、精氨酸、瓜氨酸/精氨酸、甲硫氨酸/苯丙氨酸、肉碱(C18:1、C26、C4DC、C4/C8)等代谢物指标在脑梗死组和对照组中有所差异。脑梗死患者体内氨基酸和肉碱代谢异常,打破了体内正常物质能量转运代谢库,进而出现代谢障碍。对于症状轻微或隐匿的人而言,若能检测出这些异常的氨基酸和肉碱代谢指标,对于脑梗死的诊断和预防有一定的指导意义。本文研究不足之处在于,不能将全部与脑梗死相关的代谢指标进行建模,且样本量较少。需扩大样本量,进一步证实这些异常代谢指标与脑梗死发病的相关性。对于人为干预某些氨基酸和肉碱浓度能否降低脑梗死的发病仍需进一步研究。

### 【参考文献】

- [1] 万薇,邓秋迎. 急性脑卒中患者分诊效果的比较[J]. 国际护理学杂志,2016,35(15):2073-2075.
- [2] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J]. 中华神经科杂志,2018,51(9):666-682.
- [3] Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. Metabonomics; understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*,1999,29(11):1181-1189.
- [4] 刘彦玲,张丛,王强,等. 糖尿病肾病代谢组学差异代谢物的研究进展[J]. 药物评价研究,2019,42(1):187-193.
- [5] 韦金涛,李华,邱恩明. 结核病的代谢组学研究进展[J]. 中国防痨杂志,2018,40(11):1226-1230.
- [6] 刘健,闫秀娥,周丽雅,等. 全谱氨基酸代谢组学在胃癌诊断中的应用[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2019,28(1):16-20.
- [7] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南2014[J]. 中华神经科杂志,2015,48(4):246-257.
- [8] 蔡业峰,贾真,张新春,等. 美国国立卫生院卒中量表(NIHSS)中文版多中心测评研究附537例缺血性中风多中心多时点临床测评研究[J]. 北京中医药大学学报,2008,31(7):494-498.
- [9] Wang XX, Lv X, Li SY, et al. Identification and characterization of naturally occurring inhibitors against UDP-glucuronosyltransferase 1A1 in *Fructus Psoraleae* (Bu-gu-zhi) [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015,289(1):70-78.
- [10] 王佳美. 支链氨基酸与2型糖尿病的联系[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(5):590-593.
- [11] Lackey Denise E, Lynch Christopher J, Olson Kristine C, et al. Regulation of adipose branched-chain amino acid catabolism enzyme expression and cross-adipose amino acid flux in human obesity [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*,2013,304(11):1175-1187.
- [12] Kimberly WT, Wang Y, Pham L, et al. Metabolite profiling identifies a branched chain amino acid signature in acute cardioembolic stroke [J]. *Stroke*,2013,44(5):1389-1395.
- [13] 涂佳玉,阿基业,王广基,等. 通塞脉微丸干预缺血性中风模型大鼠的血浆代谢组学研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(7):1028-1033.
- [14] Lee Y, Khan A, Hong S, et al. A metabolomic study on high-risk stroke patients determines low levels of serum lysine metabolites: a retrospective cohort study [J]. *Mol Biosyst*,2017,13(6):1109-1120.
- [15] Nachbauer CA, James JH, Edwards LL, et al. Infusion of branched chain-enriched amino acid solutions in sepsis [J]. *Am J Surg*,1984,147(6):743-752.
- [16] Husson A, Brasse-Lagnel C, Fairand A, et al. Argininosuccinate synthetase from the urea cycle to the citrulline-NO cycle [J]. *Eur J Biochem*,2003,270(9):1887-1899.
- [17] Cherian L, Hlatky R, Robertson CS. Comparison of tetrahydrobiopterin and L-arginine on cerebral blood flow after controlled cortical impact injury in rats [J]. *J Neurotrauma*,2004,21(9):1196-1203.
- [18] 丁俊丽,贺婕,缴克华,等. L-精氨酸对大鼠局灶性脑缺血再灌注早期炎症损伤研究[J]. 标记免疫分析与临床,2014,21(6):715-717.
- [19] 张标. 通过一氧化氮与抗氧化剂改善心脑血管和免疫力的保健品;中国[P]. CN201710312105.4,2017-09-15.
- [20] 周吉芳,吕舸,丁启龙. 内皮一氧化氮合酶与代谢综合征的关系[J]. 药学研究,2018,37(12):722-727.
- [21] Ji Y, Song B, Xu YM, et al. Prognostic significance of homocysteine levels in acute ischemic stroke: a prospective cohort study [J]. *Curr Neurovasc Res*,2015,12(4):334-340.
- [22] 王琨蒂,车宁,胡景伟,等. 高苯丙氨酸血症患者脑电图特点及临床意义[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2012,6(2):302-305.
- [23] 邹卉,刘玉俊. 高苯丙氨酸血症患儿脑白质病变范围与临床表型、生化表型的关系[C]. 中华预防医学会年会,2009.
- [24] Deutsch J, Kalderon B, Purdon AD, et al. Evaluation of brain long-chain acylcarnitines during cerebral ischemia [J]. *Lipids*,2000,35(6):693-696.
- [25] Slivka A, Silbersweig D, Pulsinelli W. Carnitine treatment for stroke in rats [J]. *Stroke*,1990,21(5):808-811.
- [26] Rousseau M, Guénard F, Gameau V, et al. Associations between dietary protein sources, plasma BCAA and short-chain acylcarnitine levels in adults [J]. *Nutrients*,2019,11(1),2072-6643.