

· 临床研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.07.007

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240119.0934.002\(2024-01-19\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240119.0934.002(2024-01-19))

## 粪便差异菌群、代谢物联合弥散张量成像对 早产儿脑白质损伤的诊断价值\*

刘玲, 罗晗, 李银珊, 李承燕, 敖当, 林少珠<sup>△</sup>

(广东医科大学附属医院儿科, 广东湛江 524000)

**[摘要]** **目的** 探讨粪便 16S rRNA 基因测序、代谢组学技术联合弥散张量成像技术(DTI)对早产儿脑白质损伤(WMI)的诊断价值。**方法** 选取 2022 年 4—12 月该院收治的出生胎龄 <32 周且体重 <1 500 g 的 71 例早产儿为研究对象,根据 MRI 检查结果分为 WMI 组( $n=23$ )和非 WMI 组( $n=48$ )。收集出生后 24 h 内及出生后 14、28 d 的粪便标本,进行 16S rRNA 基因测序和 LC-MS/MS 代谢组学分析,纠正胎龄 37~40 周时完善头颅 MRI+DTI 检查,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析肠道菌群结构、差异代谢物及 DTI 联合对 WMI 的诊断效能。**结果** 基于属水平诊断 WMI 的曲线下面积(AUC)为 0.88(95%CI:0.74~<1.00),WMI 和非 WMI 差异代谢物集诊断 WMI 的 AUC 为 0.98(95%CI:0.96~0.99)。胼胝体压部的 ADC 值( $r^2=0.2302$ ,  $P=0.001$ )、枕叶白质的 FA 值( $r^2=0.2910$ ,  $P=0.001$ )与肠道菌群结构最相关。差异性菌群、代谢物联合 FA 值(侧脑室旁白质和胼胝体压部)诊断 WMI 的 AUC 为 0.98(95%CI:0.93~<1.00)。**结论** 特征性肠道菌群、差异代谢物和 DTI 参数可在很大程度上区分 WMI 和非 WMI。

**[关键词]** 早产儿脑白质损伤;肠道菌群;16S rRNA 基因测序;LC-MS/MS 代谢组学分析;弥散张力成像

**[中图分类号]** R722.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)07-0998-06

## Diagnostic value of fecal differential flora and metabolites combined with diffusion tensor imaging in premature infants with white matter injury\*

LIU Ling, LUO Han, LI Yinshan, LI Chengyan, AO Dang, LIN Shaozhu<sup>△</sup>

(Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University,  
Zhanjiang, Guangdong 524000, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the diagnostic value of fecal 16S rRNA gene sequencing, metabolomics technology combined with diffusion tensor imaging (DTI) in premature infants with white matter injury (WMI). **Methods** A total of 71 premature infants with gestational age <32 weeks and body weight <1 500 g treated in this hospital from April to December 2022 were selected as the research subjects and divided into the WMI group ( $n=23$ ) and non-WMI group ( $n=48$ ) according to the MRI results. The fecal samples were collected within 24 h after birth, on 14, 28 d after birth, and 16S rRNA gene sequencing and LC-MS/MS metabolomics analysis were performed. All subjects underwent brain MRI+DTI examination when corrected gestational age was 37–40 weeks. The diagnostic efficiency of the combination of intestinal flora structure, differential metabolites and DTI on WMI was studied by receiver operator characteristic curve (ROC). **Results** The area under the curve (AUC) for diagnosing WMI based on the generic level was 0.88 (95%CI:0.74–<1.00). AUC of WMI and non-WMI differential metabolite set for diagnosing WMI was 0.98 (95%CI:0.96–0.99). The ADC value of the splenium of corpus callosum ( $r^2=0.2302$ ,  $P=0.001$ ) and FA value of occipital white matter ( $r^2=0.2910$ ,  $P=0.001$ ) were most related to intestinal flora structure. AUC of differential flora and metabolites combined with FA values (lateral ventricle white matter and corpus callosum pressure) in the diagnosis of WMI was 0.98 (95%CI:0.93–<1.00). **Conclusion** Characteristic intestinal flora, differential metabolites and DTI parameters could distinguish WMI from non-WMI to a great extent.

**[Key words]** white matter injury of preterm infant; intestinal flora; 16S RNA sequencing; metabolomics analysis of LC-MS/MS; diffusion tensor imaging

\* 基金项目:广东省湛江市科技计划项目(2021A05078);广东医科大学附属医院临床研究项目(LCYJ2020DL01, LCYJ2019B009)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: bestlsz@163.com。

由于新生儿重症监护病房的技术不断提高,早产儿数目每年都在不断增加,存活的早产儿患弥漫性脑白质损伤(white matter injury, WMI)和神经发育不良的风险较高<sup>[1]</sup>。WMI 是早产儿脑损伤的主要表现形式,多发生在胎龄<32 周白质发育未成熟的早产儿,是造成慢性神经系统发育不良的主要原因<sup>[2-3]</sup>。WMI 可引起脑性瘫痪、癫痫、认知障碍、语言及视觉障碍<sup>[4-5]</sup>。

弥散张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)是一种新的 MRI 成像技术,能够可视化白质结构,评估白质纤维髓鞘化程度,对大脑皮层的微观结构变化更敏感<sup>[6]</sup>。对于早产儿 WMI 来说,DTI 是目前唯一可用于研究白质纤维的无创技术。本课题组前期研究也发现,DTI 能够早期量化早产儿的 WMI,即 FA 值的降低和 ADC 值的升高能反映神经纤维束的发育和 WMI 的程度。

肠道菌群的平衡是维持肠道功能和机体稳态的关键,肠道菌群与宿主之间的相互作用是当前的热点。然而,肠道菌群的组成和多样性是不稳定的,极易受到食物、生活环境、药物、疾病,尤其是抗生素的影响<sup>[7]</sup>。微生物-肠-脑轴在神经系统疾病中起着至关重要的作用。

目前, MRI 及超声可检测的非囊性 WMI 的比例较低,轻、中度 WMI 患儿的早期诊断仍是一大挑战,与 WMI 相关的潜在的微生物学标志物尚未被确定。本研究旨在使用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线探讨粪便肠道菌群、LC-MS/MS 代谢组学及 DTI 联合诊断 WMI 的灵敏度和特异性,寻找诊断 WMI 的生物学标志物,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2022 年 4—12 月本院收治的 71 例早产儿为研究对象。纳入标准:(1)出生胎龄<32 周;(2)出生体重<1 500 g;(3)入院日龄≤24 h;(4)家属签署知情同意书。排除标准:(1)死亡;(2)住院期间因故未能完成头颅 MRI+DTI 检查;(3)合并先天性染色体异常或遗传代谢病者;(4)先天性大脑畸形;(5)各种原因造成图像不能分析;(6)已使用微生态制剂。本研究经医院机构审查伦理委员会批准(PJ2021-097)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 粪便收集与保存

分别采集研究对象出生后 24 h 内及出生后 14、28 d 粪便标本,取标本时使用无菌棉拭子从粪便的 3 个不同位置采集,每管约 0.2 g(黄豆大小),贮存于-80 °C 冰箱保存至送检。

#### 1.2.2 DNA 提取、PCR 扩增及 Illumina Miseq 测序

根据 E. Z. N. A.<sup>®</sup> soil DNA kit(美国 Omega Bio-tek 公司)说明书进行微生物群落总基因组 DNA 抽提,使用 1%的琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA 的质量,使用 NanoDrop2000(美国 Thermo Scientific 公司)测定 DNA 浓度和纯度。以上述提取的 DNA 为模板,使用携带 Barcode 序列的上游引物 338(正向:5'-

ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG-3')和下游引物 806(反向:5'-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3')<sup>[8]</sup>对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

#### 1.2.3 高通量测序数据分析

使用 CCA 分析临床指标对肠道菌群结构的影响,采用 ROC 曲线分析诊断效能。

#### 1.2.4 LC-MS/MS 分析

使用超高效液相色谱串联傅里叶变换质谱 UH-PLC-Q Exactive HF-X 系统(美国 Thermo Scientific 公司),预处理后的数据上传美吉生物云平台(<https://cloud.majorbio.com>)进行数据分析。

#### 1.2.5 MRI+DTI 检查及图像处理

MRI 检查采用 3.0T 磁共振成像仪(美国 GE 公司)扫描对所有研究对象头部实施 MRI 扫描。常规 MRI 扫描序列包括:T1WI 轴位(TR 2 849 ms/TE 30 ms)及矢状位(TR 3 266 ms/TE 38 ms)、T2WI(TR 5 454 ms/TE 92 ms)及 T2WI FLAIR(TR 8 500 ms/TE 90 ms)轴位成像。轴位扫描序列均以听眦线为扫描基线,层厚为 5 mm,层间距为 1 mm,FOV=20×20。矢状位扫描层厚 5.0 mm,层间距 0.5 mm,FOV=20×20;DWI 及 DTI 扫描采用单次激发平面回波成像(EPI)序列,DWI 扫描 b 值为 0,1 000 s/mm<sup>2</sup>,FOV=20×20;DTI 扫描 b 值为 1 000 s/mm<sup>2</sup>,TR 3 000 ms/TE minimum,层厚 5.0 mm,层间距 1.0 mm,FOV=20×20,弥散梯度方向采用非同一直线上的 25 个方向。

利用 FLnctool 功能软件(美国 GE 公司)对 DTI 原始弥散图像进行后处理得到彩色 FA 图。感兴趣区(region of interest, ROI)在 T2WI 上选定,测量的 8 个 ROI 区域分别为额叶白质、顶叶白质、枕叶白质、侧脑室旁白质、内囊前肢、内囊后肢、胼胝体膝部、胼胝体压部。

#### 1.2.6 影像学结果分析

MRI WMI 程度<sup>[9]</sup>划分如下,(1)轻度:≤3 个区域的 T1 信号异常,每个区域损伤范围<2 mm。(2)中度:>3 个区域的 T1 信号异常;每个区域损伤范围≥2 mm,但<5%的半球受累。(3)重度:>5%的半球受累。根据 MRI 检查结果,将研究对象分为 WMI 组( $n=23$ )和非 WMI 组( $n=48$ ),再根据 MRI 脑白质损伤程度将 WMI 组分为轻度 WMI 组( $n=12$ )和中重度 WMI 组( $n=11$ )。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS26.0、R3.5.3 软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,比较采用  $t$  检验或方差分析;不符合正态分布的计量资料以  $M(Q_1, Q_3)$  表示,比较采用非参数检验;计数资料以例数或百分比表示,比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组一般资料比较

表 1 各组一般资料比较

项目	轻度 WMI 组( $n=12$ )	中重度 WMI 组( $n=11$ )	非 WMI 组( $n=48$ )
胎龄( $\bar{x}\pm s$ ,周)	30.40 $\pm$ 1.64	29.60 $\pm$ 2.00	29.90 $\pm$ 1.70
出生体重( $\bar{x}\pm s$ ,kg)	1.32 $\pm$ 0.13	1.31 $\pm$ 0.28	1.30 $\pm$ 0.22
住院天数( $\bar{x}\pm s$ ,d)	46.17 $\pm$ 8.70	54.40 $\pm$ 23.30	50.88 $\pm$ 13.30
正压通气时间[M(Q <sub>1</sub> ,Q <sub>3</sub> ),d]	6.5(3.0,10.7)	14.0(9.0,19.0)	6.0(6.3,10.5)
抗生素使用时间[M(Q <sub>1</sub> ,Q <sub>3</sub> ),d]	6.0(4.2,8.0)	7.0(4.0,11.0)	5.5(4.6,6.9)

### 2.2 各组 ADC 和 FA 值比较

轻度 WMI 组胼胝体压部 ADC 值较非 WMI 组升高,中重度 WMI 组枕叶白质、脑室旁白质、胼胝体膝部和压部 ADC 值较非 WMI 组升高( $P<0.05$ )。轻度 WMI 组额叶白质、胼胝体压部 FA 值较中重度 WMI 组升高,中重度 WMI 组额叶白质、内囊后肢、胼胝体压部 FA 值较非 WMI 组降低( $P<0.05$ ),见图 1。

### 2.3 DTI 值和肠道菌群结构的相关性

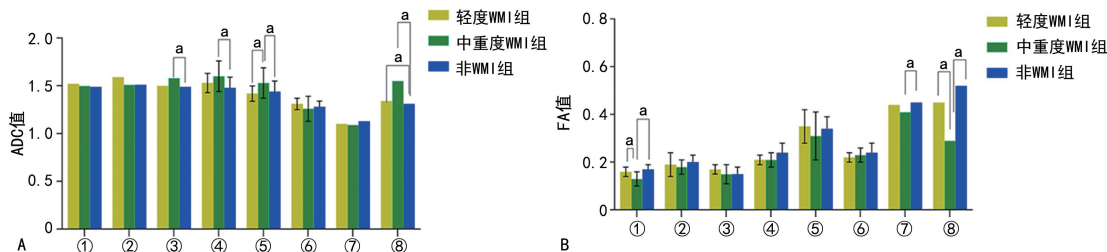
CCA 分析结果显示,顶叶白质、枕叶白质及胼胝体压部的 ADC 值与菌群结构相关( $P<0.05$ ),其中

各组一般资料比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

胼胝体压部 ADC 值的  $r^2$  值最大( $r^2=0.2302$ , $P=0.001$ ),胼胝体压部与菌群结构相关性较大。此外,额叶白质、枕叶白质、胼胝体膝部和压部的 FA 值与菌群结构相关,其中枕叶白质的 FA 值  $r^2$  值最大( $r^2=0.2910$ , $P=0.001$ ),见图 2。

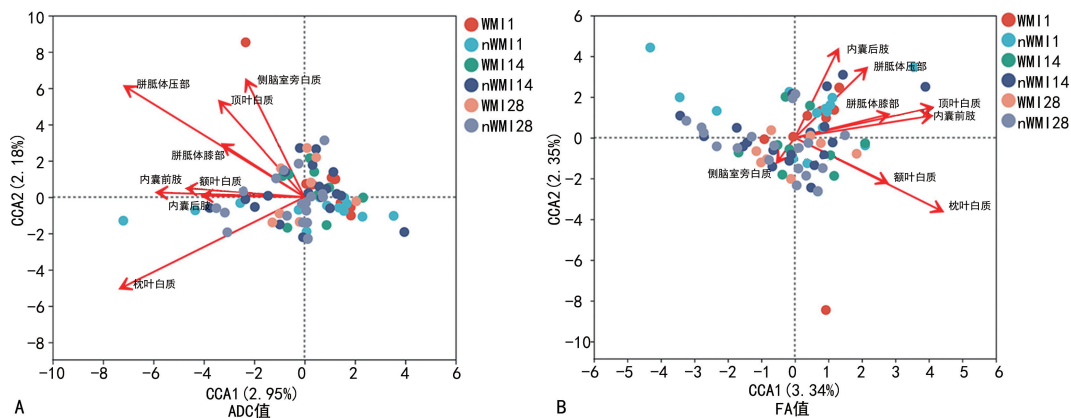
### 2.4 肠道菌群对 WMI 的诊断价值分析

属水平诊断 WMI 的曲线下面积(area under the curve,AUC)为 0.88(95%CI:0.74~<1.00)。每个变量的贡献用变量的重要性得分来表示,葡萄球菌属(*g\_ Staphylococcus*)的得分最高,达 5.69256 分,见图 3。



A:轻度 WMI 组、中重度 WMI 组与非 WMI 组各 ROI 的 ADC 值比较;B:轻度 WMI 组、中重度 WMI 组与非 WMI 组各 ROI 的 FA 值比较;①:额叶白质;②:顶叶白质;③:枕叶白质;④:脑室旁白质;⑤:胼胝体膝部;⑥:内囊前肢;⑦:内囊后肢;⑧:胼胝体压部;<sup>a</sup>: $P<0.05$ 。

图 1 各组大脑 ROI 区域 DTI 值比较



A:枕叶白质和胼胝体压部的 ADC 值明显影响肠道菌群组成;B:枕叶白质、顶叶白质及内囊前肢 FA 值明显影响肠道菌群组成。

图 2 CCA 分析

### 2.5 差异代谢物对 WMI 的预测能力

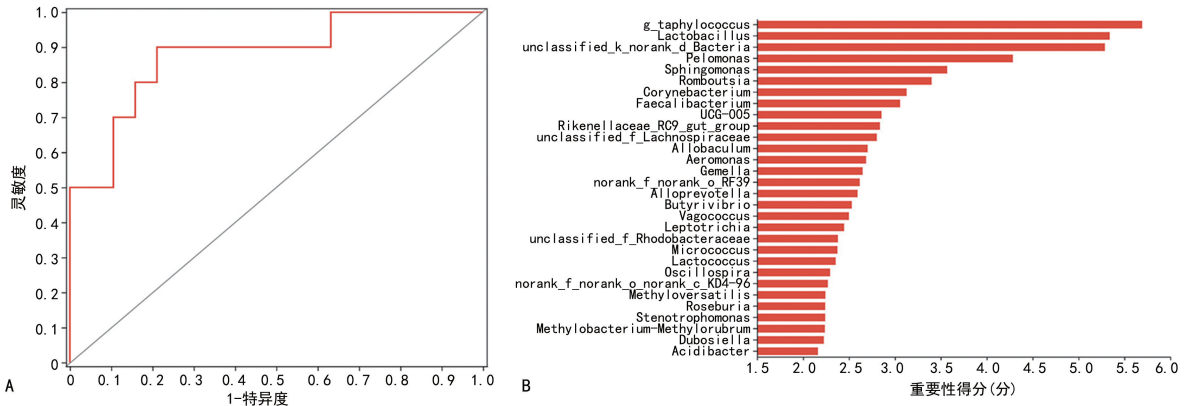
ROC 曲线分析结果显示,在区分 WMI 与非 WMI 时,几种代谢物具有高灵敏度和特异度,WMI 组和非 WMI 组 AUC 前 3 的代谢物分别是 7-Methylhypoxanthine、Gly Gly Leu 和 2-Aminobenzylstatine。WMI1 和非 WMI1 差异代谢物集诊断 WMI 的 AUC 为 0.98(95%CI:0.96~0.99),见图 4。

### 2.6 差异菌群、代谢物及 DTI 联合对诊断 WMI 的预测能力

ROC 曲线分析结果显示,在区分 WMI 与非 WMI 时,侧脑室旁白质和胼胝体压部 FA 值诊断 WMI 的 AUC 为 0.74(95%CI:0.56~0.92)。差异菌群和代谢物指标联合诊断 WMI 的 AUC 为 0.94(95%CI:0.86~<1.00)。差异菌群、代谢物联合 FA

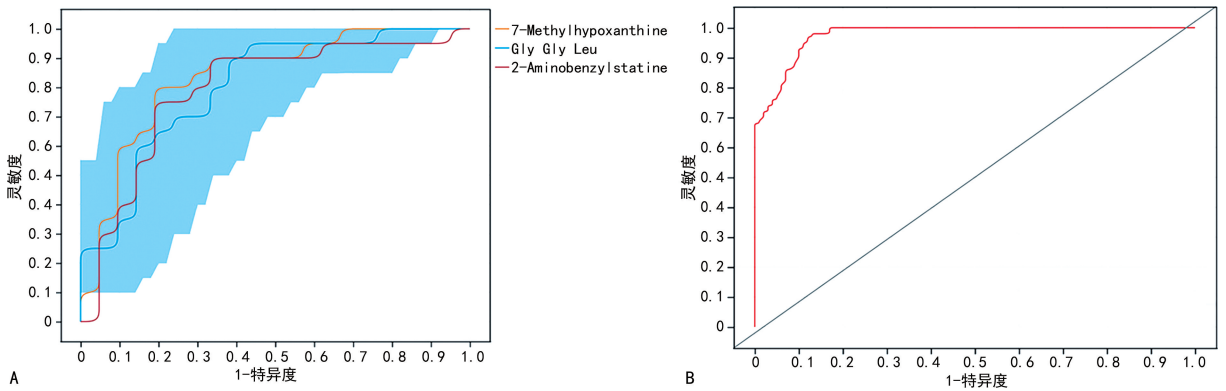
值诊断 WMI 的 AUC 为 0.98 (95% CI: 0.93 ~ < 1.00)。每个变量的贡献用变量的重要性得分来表示,Cholic Acid 的得分最高,为 5.453 分,N-Docosa-

hexaenoyl Cysteine 得分为 5.166 分,g\_Staphylococcus 得分为 5.159,见图 5。



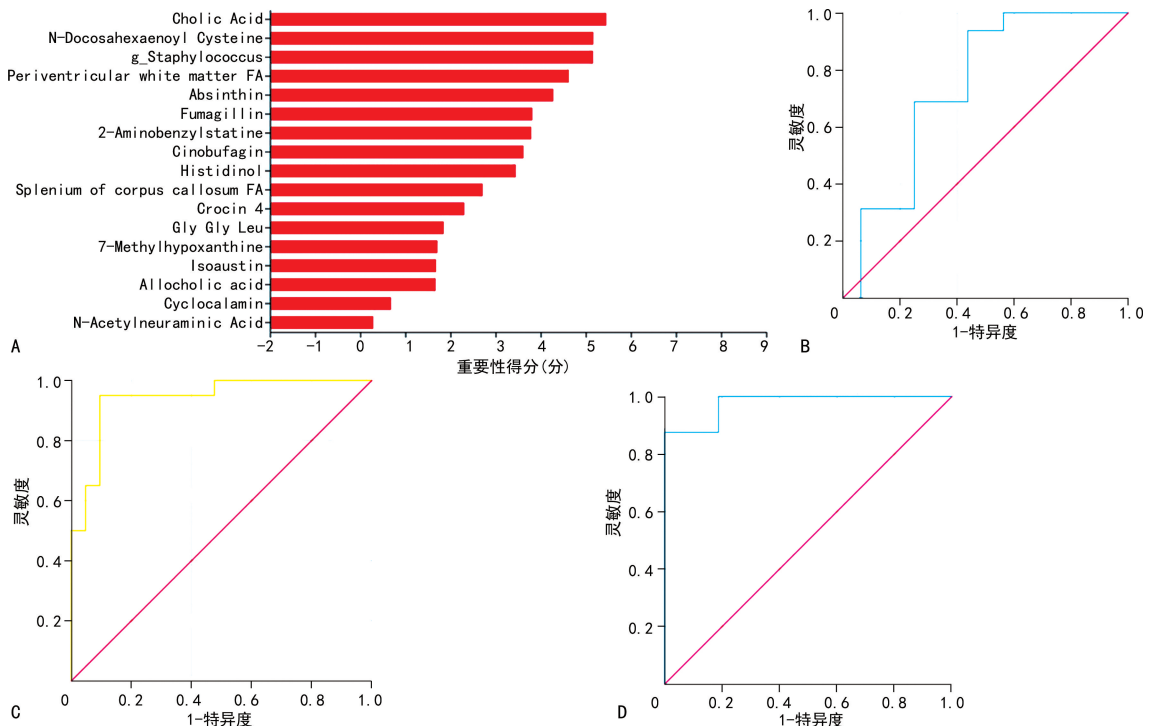
A:ROC 曲线(属水平);B:物种重要性排序图。

图 3 肠道菌群对 WMI 的诊断价值分析



A:AUC 最高的前 3 个代谢物的 ROC 曲线;B:WMI1 vs. 非 WMI1 代谢物集的 ROC 曲线。

图 4 差异代谢物对 WMI 的预测能力



A:指标重要性排序图;B:FA 值诊断 WMI 的 ROC 曲线;C:差异菌群、代谢物联合诊断 WMI 的 ROC 曲线;D:差异菌群、代谢物和 FA 值联合诊断 WMI 的 ROC 曲线。

图 5 差异菌群、代谢物及 DTI 联合对诊断 WMI 的预测能力

### 3 讨 论

肠道菌群的作用受得越来越多的关注,肠道菌群失调与糖尿病、代谢综合征、非酒精性脂肪性肝病等代谢疾病,甚至与阿尔茨海默病、抑郁症等神经精神疾病有关<sup>[10-11]</sup>。WMI 是与早产相关的常见并发症之一,是迄今为止早产儿脑损伤最常见的类型,50% 以上发生在极低出生体重儿<sup>[12-13]</sup>,然而目前 WMI 的早期诊断仍有挑战。本研究评估使用粪便 16S rRNA 基因测序、代谢组学及 DTI 联合指标对诊断 WMI 的预测能力。

肠道菌群多样性的减少及肠道微生物种类、数量、比例和位置的改变被称为菌群失调,在多种疾病的发病机制中起着重要作用<sup>[14-15]</sup>。早产儿肠道中潜在致病菌的定植增加,会使菌群多样性减少<sup>[16]</sup>。在过去的十年里,越来越多的学者认识到肠道菌群对大脑功能的重要性及其在神经系统疾病中的作用,甚至可能作为影响大脑发育的生物学标志物<sup>[17-18]</sup>。有研究发现,克雷伯杆菌属在肠道的过度生长可高度预测脑损伤<sup>[19]</sup>。本研究在属水平物种重要性得分排序中,葡萄球菌属得分最高,可能是 WMI 早期诊断的潜在微生物。葡萄球菌属作为潜在有害的肠道细菌,ZHANG 等<sup>[20]</sup>研究发现其丰度与血清总胆红素水平呈正相关。YOU 等<sup>[14]</sup>研究发现,创伤性脑损伤引起肠道菌群失调后会改变胆汁酸分布而导致胃肠功能障碍,而葡萄球菌属可能是导致胆汁酸代谢变化的主要菌群。

本研究通过 ROC 曲线分析发现可能的生物标志物,从而将 WMI 粪便标本与非 WMI 组标本区分开来,结果显示,7-Methylhypoxanthine、Gly Gly Leu 和 2-Aminobenzylstatine 可作为诊断 WMI 的高灵敏度和高特异度的代谢物。7-Methylhypoxanthine 属于嘌呤和嘌呤衍生物,2-Aminobenzylstatine 属于羧酸及其衍生物,二者在 WMI 组水平降低。Cholic Acid 属于胆汁酸、醇及其衍生物,参与初级胆汁酸生物合成<sup>[21]</sup>。葡萄球菌属可能通过下调 Cholic Acid 和 Allocholic Acid 等代谢物,影响胆汁酸生物合成,从而引起 WMI。然而,这些代谢物对大脑发育的影响尚未见公开报道,其功能需要进一步的研究探讨。

DTI 是目前唯一量化早产儿脑白质发育和损伤的方法,它可以识别 MRI 无法筛查的损伤<sup>[22]</sup>。本研究发现,在 WMI 组中,脑髓鞘形成延迟,尤其以侧脑室旁白质和胼胝体压部表现最明显,二者 ADC 值增高及 FA 值降低可能是早产儿发生 WMI 的早期重要标志。本研究还发现,早产儿 WMI 的发生率为 32.3%,中重度 WMI 的发生率为 15.4%,这与 GANO 等<sup>[23]</sup>的研究一致,但本研究早产儿胎龄和出生体重更小。

本研究选取的 ROI 为双侧额部白质、顶叶白质、枕叶白质、侧脑室旁白质、内囊前后肢、胼胝体膝部和压部,包括外周白质和深部白质,这些区域是 WMI 最常见的位置。胼胝体和内囊位于脑组织中心和深部

白质,额叶、顶叶和枕叶白质分别位于周围脑组织的前、中、后,分析上述 ROI 影像学变化,可以初步了解早产儿白质结构的整体特征。FA 值由神经纤维密度、含水量、髓鞘形成和纤维一致性来决定,多项研究发现,早产儿低 FA 值和神经系统发育异常有关<sup>[13,24]</sup>。本研究发现,根据胼胝体压部的 ADC 值和 FA 值,可以很好地判断新生儿 WMI 及损伤的程度。连接左右大脑皮层并高度整合高级运动中心和认知功能的胼胝体,一旦被破坏,就会导致双侧大脑半球连接断开。MALAVOLTI 等<sup>[25]</sup>研究发现,当校正年龄为 18 个月时,胼胝体 FA 值降低与运动发育延迟有关。GANO 等<sup>[23]</sup>研究发现,内囊损伤可导致定向障碍、构音障碍、记忆障碍、语言障碍、行为改变等。中重度 WMI 组内囊后肢的 FA 值较非 WMI 组明显降低。

综上所述,本研究首次将早产儿的肠道菌群、代谢物和脑白质结构相结合,并探讨这些因素对 WMI 的诊断价值,结果扩展了现有的关于微生物-肠-脑轴的知识,表明特征性肠道菌群、差异代谢物和 DTI 在很大程度上有助于区分 WMI 和非 WMI,可以作为诊断和治疗的潜在靶点。但本研究仍有局限性:(1)相对较小的样本量,未来需要扩大样本量;(2)因为不可控力因素影响,研究对象出院后无法顺利完成随访;(3)本研究是单中心研究,这些发现可能不适用于其他地区,需要前瞻性、多中心研究来验证该结论。

### 参考文献

- [1] KIMPTON J A, BATALLE D, BARNETT M L, et al. Diffusion magnetic resonance imaging assessment of regional white matter maturation in preterm neonates[J]. *Neuroradiology*, 2021, 63(4):573-583.
- [2] GUILLOT M, MILLER S P. The dimensions of white matter injury in preterm neonates[J]. *Semin Perinatol*, 2021, 45(7):151469.
- [3] BALLABH P, DE VRIES L S. White matter injury in infants with intraventricular haemorrhage: mechanisms and therapies[J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(4):199-214.
- [4] DIBBLE M, ANG J Z, MARIGA L, et al. Diffusion tensor imaging in very preterm, moderate-late preterm and term-born neonates: a systematic review[J]. *J Pediatr*, 2021, 232:48-58.
- [5] NAKAO M, NANBA Y, OKUMURA A, et al. Fetal heart rate evolution and brain imaging findings in preterm infants with severe cerebral palsy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2023, 228(5):1-14.
- [6] LIU Y, NIE B, WANG Y, et al. Correlation of abnormal brain changes with perinatal factors

- in very preterm infants based on diffusion tensor imaging [J]. *Front Neurosci*, 2023, 17: 1137559.
- [7] HO K M, KALGUDI S, CORBETT J M, et al. Gut microbiota in surgical and critically ill patients[J]. *Anaesth Intensive Care*, 2020, 48(3): 179-195.
- [8] LIU C, ZHAO D, MA W, et al. Denitrifying sulfide removal process on high-salinity wastewaters in the presence of *Halomonas* sp[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100(3): 1421-1426.
- [9] MARTINEZ-BIARGE M, GROENENDAAL F, KERSBERGEN K J, et al. Neurodevelopmental outcomes in preterm infants with white matter injury using a new MRI classification[J]. *Neonatology*, 2019, 116(3): 227-235.
- [10] MARGOLIS K G, CRYAN J F, MAYER E A. The microbiota-gut-brain axis: from motility to mood [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(5): 1486-1501.
- [11] ZHAO H, JIN K, JIANG C, et al. A pilot exploration of multi-omics research of gut microbiome in major depressive disorders[J]. *Transl Psychiatry*, 2022, 12(1): 8.
- [12] XIE Y, YANG Y, YUAN T. Brain damage in the preterm infant: clinical aspects and recent progress in the prevention and treatment[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2023, 22(1): 27-40.
- [13] JANSON E, WILLEMSSEN M F, VAN BEEK P E, et al. The influence of nutrition on white matter development in preterm infants: a scoping review[J/OL]. *Pediatr Res.* (2023-05-05) [2023-08-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37147439/>.
- [14] YOU W, ZHU Y, WEI A, et al. Traumatic brain injury induces gastrointestinal dysfunction and dysbiosis of gut microbiota accompanied by alterations of bile acid profile[J]. *J Neurotrauma*, 2022, 39(1): 227-237.
- [15] YU X, ZHOU G, SHAO B, et al. Gut microbiota dysbiosis induced by intracerebral hemorrhage aggravates neuroinflammation in mice [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 647304.
- [16] TIRONE C, PEZZA L, PALADINI A, et al. Gut and lung microbiota in preterm infants: immunological modulation and implication in neonatal outcomes[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2910.
- [17] NIEMARKT H J, DE MEIJ T G, VAN GANZEWINKEL C J, et al. Necrotizing enterocolitis, gut microbiota, and brain development: role of the brain-gut axis[J]. *Neonatology*, 2019, 115(4): 423-431.
- [18] ASWENDT M, GREEN C, SADLER R, et al. The gut microbiota modulates brain network connectivity under physiological conditions and after acute brain ischemia[J]. *Science*, 2021, 24(10): 103095.
- [19] SEKI D, MAYER M, HAUSMANN B, et al. Aberrant gut-microbiota-immune-brain axis development in premature neonates with brain damage[J]. *Cell Host Microbe*, 2021, 29(10): 1558-1572.
- [20] ZHANG X, ZENG S, CHENG G, et al. Clinical manifestations of neonatal hyperbilirubinemia are related to alterations in the gut microbiota [J]. *Children*, 2022, 9(5): 764.
- [21] ZHANG C, ZHANG Y, ZHAO T, et al. Schisandrin alleviates the cognitive impairment in rats with Alzheimer's disease by altering the gut microbiota composition to modulate the levels of endogenous metabolites in the plasma, brain, and feces[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 888726.
- [22] MIN Z G, SHAN H R, XU L, et al. Diffusion tensor imaging revealed different pathological processes of white matter hyperintensities[J]. *BMC Neurol*, 2021, 21(1): 128.
- [23] GANO D, ANDERSEN S K, PARTRIDGE J C, et al. Diminished white matter injury over time in a cohort of premature newborns[J]. *J Pediatr*, 2015, 166(1): 39-43.
- [24] TRIPLETT R L, SMYSER C D. Neuroimaging of structural and functional connectivity in preterm infants with intraventricular hemorrhage [J]. *Semin Perinatol*, 2022, 46(5): 151593.
- [25] MALAVOLTI A M, CHAU V, BROWN-LUM M, et al. Association between corpus callosum development on magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging, and neurodevelopmental outcome in neonates born very preterm[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2017, 59(4): 433-440.