

• 论 著 •

超高效液相色谱串联质谱法检测晨尿中 儿茶酚胺及其代谢产物的价值

闫亚娟¹, 黄 猛², 张 丹², 刘慧琳², 伦立民^{2△}

1. 青岛大学医学部, 山东青岛 266000; 2. 青岛大学附属医院检验科, 山东青岛 266000

摘 要:目的 建立一种稳定、灵敏、可靠且可以同时检测尿儿茶酚胺及其代谢产物的方法。方法 采用超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)检测晨尿标本中儿茶酚胺及其代谢产物。采用固相萃取的前处理方法,对液相色谱条件及质谱条件进行优化,并对该方法的检测限、定量下限、线性、精密度、准确度和基质效应及稳定性进行性能验证。检测 100 例体检健康者晨尿及其中 20 例体检健康者 24 h 尿液,根据肌酐检测值对稀释差异进行归一化,考察晨尿与 24 h 尿液收集这两种不同采样方法之间检测儿茶酚及其代谢产物的相关性,并建立了晨尿检测 6 种分析物的参考区间。结果 6 种分析物在相应的浓度范围内均线性关系良好,精密度、准确度、基质效应均 $\leq 10\%$,室温放置 24 h、4℃放置 24 h、4℃放置 48 h 及 -80°C 放置 7 d 稳定性均较好,变化 $\leq 6.2\%$ 。晨尿与 24 h 尿液标本检测结果呈正相关($r=0.93\sim 0.97, P<0.0001$),6 种分析物的参考区间去甲肾上腺素为 2.6~140.4 $\mu\text{g/g Cr}$,肾上腺素为 0.3~37.2 $\mu\text{g/g Cr}$,多巴胺为 43.4~561.8 $\mu\text{g/g Cr}$,3-甲氧酪胺为 18.0~165.7 $\mu\text{g/g Cr}$,甲氧基去甲肾上腺素为 15.1~241.5 $\mu\text{g/g Cr}$,甲氧基肾上腺素为 6.8~192.0 $\mu\text{g/g Cr}$ 。结论 建立了一种方便快捷、灵敏、特异的 UPLC-MS/MS,一次进样可同时检测晨尿中 6 种儿茶酚胺及其代谢产物,可为儿茶酚胺的常规检测及临床应用提供一种简单、可靠的新手段。

关键词:液相色谱串联质谱法; 儿茶酚胺; 甲氧基肾上腺素; 3-甲氧酪胺

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.017

中图法分类号:R446.9

文章编号:1673-4130(2021)10-1228-06

文献标志码:A

Determination value of catecholamines and their metabolites in morning urine by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YAN Yajuan¹, HUANG Meng², ZHANG Dan², LIU Huilin², LUN Limin^{2△}

1. Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China

Abstract: Objective To establish a stable, sensitive and reliable method for the detection of urinary catecholamines and their metabolites. **Methods** The catecholamines and their metabolites in morning urine samples were detected by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). Solid phase extraction was used as the pretreatment method, and optimized the conditions of liquid chromatography and mass spectrometry, and verified the performance of the method, including limit of detection, limit of quantitation, linearity, precision, accuracy, matrix effect and stability. Morning urine of 100 apparently healthy subjects and 24 h urine of 20 cases of them were measured. The difference of dilution was normalized according to the creatinine measured value. The correlation between the results of 6 kinds of analytes detected by morning urine and 24 h urine were analyzed, then established the reference interval of 6 kinds of analytes detected by morning urine. **Results** Within the corresponding concentration range, the linear relationship of the 6 kinds of analytes was good, the precision, accuracy and matrix effect were all less than 10%. The stability of the analytes was good when placed at room temperature for 24 h, at 4℃ for 24 h, at 4℃ for 48 h and at -80°C for 7 d, with the change equal or less than 6.2%. The results of morning urine and 24 h urine samples significantly correlated ($r=0.93\sim 0.97, P<0.0001$). The reference interval of catecholamines were as follows, noradrenaline 2.6—140.4 $\mu\text{g/g Cr}$, adrenaline 0.3—37.2 $\mu\text{g/g Cr}$, dopamine 43.4—561.8 $\mu\text{g/g Cr}$, 3-methoxytyramine 18.0—165.7 $\mu\text{g/g Cr}$, normetanephrine 15.1—241.5 $\mu\text{g/g Cr}$, metanephrine 6.8—192.0

作者简介:闫亚娟,女,技师,主要从事临床生化研究。△ **通信作者,** E-mail: lunlmqd@163.com。

本文引用格式:闫亚娟,黄猛,张丹,等.超高效液相色谱串联质谱法检测晨尿中儿茶酚胺及其代谢产物的价值[J].国际检验医学杂志,2021,42(10):1228-1232.

$\mu\text{g/g Cr}$. **Conclusion** A convenient, rapid and sensitive UPLC-MS / MS method for the determination of 6 kinds of catecholamines and their metabolites is established, which is expected to provide a simple, convenient, accurate and sensitive new method for the routine detection and clinical application of catecholamines.

Key words: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; catecholamines; metanephrine; 3-methoxytyramine

尿液儿茶酚胺及其代谢产物的检测对嗜铬细胞瘤的诊断具有重要意义^[1-2]。近年来,国内外已建立了多种液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)用于定量检测尿液中的儿茶酚胺及其代谢产物^[3-6]。这些方法大多留取患者 24 h 的尿液进行检测,存在诸多不足之处,如标本用量多、检测耗时长、标本前处理操作复杂等,限制了儿茶酚胺及其代谢产物检测的临床应用。因此,本研究旨在建立一种快速且可同时检测尿液儿茶酚胺及其代谢产物的超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS),采用简单、特异的微量尿样固相萃取,一次进样同时检测尿液中多种儿茶酚胺及其代谢产物,并建立健康成年人群尿液儿茶酚胺及其代谢产物的参考区间,为临床嗜铬细胞瘤的诊断提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择青岛大学附属医院体检健康者 100 例为研究对象,其中男 51 例,年龄 19~65 岁;女 49 例,年龄 22~52 岁。纳入研究对象均同时满足以下条件:(1)2020 年 1—7 月来青岛大学附属医院健康体检的 18~65 岁成人;(2)经体格检查未见异常;(3)血常规、尿常规、血清生化检测均未见异常;(4)影像学检查肾上腺未见异常。纳入研究对象排除具有以下任意一项条件者:(1)有严重心、肺、肝、肾等器质性疾病,身体状况差;(2)不愿意参与本研究,拒绝签署知情同意书;(3)既往或目前患有或疑似患有肾上腺疾病。本研究获得青岛大学附属医院医学伦理委员会的批准,所有研究对象均自愿参与本研究,并签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 Agilent Technologies 1290 Infinity II 超高效液相色谱仪(安捷伦,美国);QTRAP 5500 三重四极杆质谱仪(AB SCIEX,美国);色谱柱(Agilent Pursuit PFP 2×150 mm);PWCX 96 孔固相萃取板。试剂:标准品肾上腺素(E)盐酸盐、去甲肾上腺素(NE)盐酸盐、多巴胺(DA)盐酸盐、甲氧基肾上腺素(MN)盐酸盐、甲氧基去甲肾上腺素(NMN)盐酸盐、3-甲氧酪胺(3-MT)盐酸盐、高香草酸(HVA)、香草扁桃酸(VMA)及其对应的同位素内标 E-d3、NE-d6、DA-d4、MN-d3、NMN-d3、3-MT-d4、HVA-d3、VMA-d3 (Sigma, 美国),醋酸铵(北京化工,中国),乙腈(色谱级,anaqua,美国),甲醇(色谱级,anaqua,美国),实验用水为超纯水(18.2 MΩ·cm, 25℃),由 BureWATER 超纯水仪制备。尿肌酐检测采

用日立 7180 全自动生化分析仪,试剂盒购自北京利得曼生化股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 工作液制备及质控品 采用 0.2 mol/L 的盐酸溶液配制 10 $\mu\text{g/mL}$ 的儿茶酚胺及其代谢产物的储备液,并配制成不同浓度的标准品,浓度范围为 0.5~1 000.0 ng/mL。

1.3.2 标本采集 嘱所有研究对象在研究过程中不食用或饮用任何富含儿茶酚胺的食物及饮料,不服用任何药物,不进行剧烈运动,并保持日常生活方式,嘱其体检前一天晚上 8 点后禁食、禁饮,体检当天清晨 6:00 采集晨尿,并选择其中 20 例志愿者采集 24 h 尿液,采用 6 mmol/L 盐酸防腐,标本于-80℃冰箱保存。

1.3.3 标本前处理 将标准品、质控品及尿液标本取出放置至室温,并混匀,将 96 孔固相萃取板预先用甲醇和水各 1 mL 进行活化和平衡。(1)患者标本:采用 0.22 μm 尼龙滤膜过滤得到尿滤液,取 480 μL ,加入 20 μL 内标工作液和 1 mL 0.5 mol/L 的乙酸铵溶液,涡旋 5 s。(2)标准品及质控品:取 20 μL 不同浓度的标准品和质控品,加入 460 μL 超纯水,混匀后分别加入 20 μL 混合内标工作液和 1 mL 0.5 mol/L 的乙酸铵溶液,涡旋 5 s。将尿液标本、标准品及质控品分别加入 96 孔固相萃取板中,之后分别用 1 mL 20 mmol/L 的乙酸铵溶液和 1 mL 甲醇进行洗脱,最后用 500 μL 的乙腈水溶液进行洗脱,收集洗脱液 70 μL 至 96 孔固相萃取板内,上机检测。

1.3.4 色谱分析条件 色谱柱柱温为 40℃,流速为 600 $\mu\text{L/min}$,流动相 A 为水(0.1%甲酸),流动相 B 为乙腈(0.1%甲酸),梯度洗脱程序为 0 min, 5%B; 2.5 min, 50%B; 3.0 min, 95%B; 3.5 min, 5%B; 5.0 min, 5%B。

1.3.5 质谱分析条件 电喷雾离子源(ESI),正离子 MRM 扫描分析,使用气体为高纯氮气,离子源电压为 5 500 V,脱溶剂气温度为 500℃,气帘气为 25 psi,雾化气(GS1)为 60 psi,辅助加热气(GS2)为 55 psi,碰撞气(CAD)为 medium,取上清液上机检测,每次进样量 15 μL ,其他部分质谱检测参数见表 1。

1.4 方法验证

1.4.1 检出限(LOD)及定量下限(LOQ) 用标准曲线的最低浓度连续重复检测 10 次,可计算出 LOD

和 LOQ, 公式如下, $LOD = 3 \times SD / Slope$, $LOQ = 10 \times SD / Slope$ 。其中 SD 为这 10 次最低浓度的响应标准差, $Slope$ 为校准曲线的斜率。

1.4.2 线性评估和标准曲线的建立 使用不同浓度的标准品, 每个浓度重复检测 3 次, 对 6 种分析物分别建立多元回归方程进行线性评估, 分别记录 6 种分析物的线性方程和相关系数。

表 1 儿茶酚胺及其代谢物质谱参数优化

分析物	Q1 (Da)	Q3 (Da)	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)	碰撞室出口 电压(V)
E	166	135.1	85	23	9
E-d3	169	135.1	90	23	9
NE	152	106.9	85	24	9
NE-d6	158	139.2	90	22	9
DA	137	91.1	90	24	8
DA-d4	141	122.2	90	22	8
MN	180	148.2	80	24	10
MN-d3	183	151.1	85	24	10
NMN	166	134.0	70	23	10
NMN-d3	169	137.0	75	22	10
3-MT	151	119.1	80	23	9
3-MT-d4	155	123.1	80	23	9

1.4.3 精密度 取 5 例体检健康者的尿液标本分成 3 等份, 分别加入高、中、低 3 个浓度的标准品, 每个浓度每天重复检测 5 次, 连续检测 3 d, 用重复检测的变异系数(CV)表示精密度。

1.4.4 准确度 用回收实验进行评估, 取 5 例体检健康者的尿液标本分成 3 等份, 检测目的分析物浓度后, 分别加入高、中、低 3 个浓度的标准品, 检测加入标准品后的浓度。检测值应在理论值的±15%以内, 低浓度点在理论值的±20%以内。准确度=尿液标本加入标准品后测定的浓度/样品中内源性分析物与加入标准品浓度之和。

1.4.5 基质效应 尿样和空白溶剂用相同的固相萃取程序处理, 取 5 例体检健康者的尿液标本分成 3 等份, 检测目的分析物浓度后, 分别加入高、中、低 3 个浓度的标准品, 检测加入标准品后的浓度, 比值应为

0.85~1.15。基质效应=(本底加入标准品后的目的分析物浓度—本底中目的分析浓度)/溶剂中目的分析物浓度。

1.4.6 稳定性 取 10 例体检健康者的尿液标本, 分成 5 等份, 1 份立即检测, 1 份室温下放置 24 h 后检测, 1 份于 4℃冰箱中保存 24 h 后检测, 1 份于 4℃冰箱中保存 48 h 后检测, 1 份于-80℃冰箱中保存 7 d 后检测。分别分析标本在室温及 4℃冰箱的短期稳定性及-80℃长期保存的稳定性。一般认为浓度变化<15%时分析物是稳定的。稳定性(%)=(放置后检测的浓度—立即检测的浓度)/立即检测的浓度。

1.5 临床应用

1.5.1 晨尿检测儿茶酚胺及其代谢产物的有效性 分析晨尿与 24 h 尿液收集这两种不同采样方法之间检测结果的相关性, 选择 20 例研究对象, 收集其晨尿及 24 h 尿液, 根据肌酐输出值对稀释差异进行归一化, 表示为分析物与肌酐的比值(μg/g Cr)。

1.5.2 参考区间 采用建立的方法检测 100 例研究对象晨尿中各种儿茶酚胺及代谢产物, 每种分析物的尿排泄量以其浓度与肌酐浓度的比值表示, 单位为 μg/g Cr。

1.6 统计学处理 所有数据处理和量化均采用 AB-SCIEX 公司的 Analyst 1.6.1 软件包进行, 使用 SPSS26.0 进行其他统计分析。采用 K-S 正态性检验对检测结果进行正态性检验, 由于 6 种目的分析物均呈非正态分布, 因此参考区间采用 $P_{2.5}$ 和 $P_{97.5}$ 分别作为下限值、上限值, 采用 Pearson 相关和 Logistic 线性回归分析评价晨尿与 24 h 尿分析物的相关性。

2 结果

2.1 LOD、LOQ 和线性评估 LC-MS/MS 检测各种儿茶酚胺及其代谢产物的 LOD 和 LOQ, 在相应的浓度范围内, 比较各种分析物浓度及其响应的线性和二次多项式回归, 经 1/x 加权拟合的二次多项式回归显示, 线性评估决定系数(r^2)均>0.99, 且标准偏差均较小, 因此所有 6 种分析物均采用 1/x 加权的二次多项式回归。每种分析物的 LOD、LOQ 和线性参数见表 2。

表 2 儿茶酚胺及其代谢产物的 LOD、LOQ 和线性参数

分析物	LOD(ng/mL)	LOQ(ng/mL)	斜率	截距	r^2	线性范围(ng/mL)
E	0.091	0.303	0.099 3	0.008 7	0.997 6	0.5~400.0
NE	0.313	1.043	0.037 2	0.007 2	0.998 3	2.5~400.0
DA	0.495	1.650	0.047 4	0.001 4	0.997 5	2.5~1 000.0
MN	0.196	0.653	0.021 9	0.004 3	0.996 9	0.5~1 000.0
NMN	0.468	1.560	0.008 5	0.005 8	0.999 1	2.5~1 000.0
3-MT	0.189	0.630	0.019 7	0.013 6	0.998 4	5.0~800.0

2.2 精密度 LC-MS/MS 检测 6 种分析物在 3 种浓度下的重复性均较好,批内精密度和总精密度为 1.1%~8.5%,均能满足临床检测要求,见表 3。

表 3 LC-MS/MS 检测儿茶酚胺及其代谢产物的精密度

分析物	低浓度			中浓度			高浓度		
	平均浓度 (ng/mL)	批内精密度 (%)	总精密度 (%)	平均浓度 (ng/mL)	批内精密度 (%)	总精密度 (%)	平均浓度 (ng/mL)	批内精密度 (%)	总精密度 (%)
E	0.5	2.9	7.5	5.3	2.3	3.8	411.2	1.1	1.7
NE	2.7	3.1	6.4	10.4	1.5	2.9	399.1	2.4	3.5
DA	2.8	4.6	6.9	26.8	2.4	3.4	992.7	1.8	2.3
MN	0.6	1.6	8.1	26.3	1.9	4.5	1 010.0	1.2	1.9
NMN	2.5	3.3	7.8	24.9	1.7	2.7	1 009.2	1.4	2.4
3-MT	5.2	6.8	8.5	405.5	3.2	5.3	807.8	2.6	4.1

2.3 准确度和基质效应 6 种儿茶酚胺及其代谢产物的准确度为 97.2%~108.5%,*s* 均在 10%以内,均符合检测值应该在靶值的±15%以内的标准,见表 4。6 种分析物的基质效应为 93.7%~108.5%,基质效应的 CV 为 3.4%~7.3%,符合基质效应的 CV 应小于 15%的标准,见表 4。

表 4 LC-MS/MS 检测儿茶酚胺及其代谢产物的准确度和基质效应

分析物	添加标准品 (ng/mL)	准确度			基质效应		
		$\bar{x}$	<i>s</i>	CV	$\bar{x}$	<i>s</i>	CV
		(%)		(%)	(%)		(%)
E	0.5	106.1	2.8	2.6	102.3	4.7	4.6
	5.0	102.6	6.3	6.1	104.5	3.6	3.4
	400.0	103.2	5.0	4.8	99.2	5.1	5.1
NE	2.5	104.8	5.5	5.2	93.7	4.9	5.2
	100.0	98.1	4.9	5.0	94.1	5.3	5.6
	400.0	97.4	2.2	2.3	97.3	3.6	3.7
DA	2.5	105.4	6.4	6.1	107.9	6.8	6.3
	25.0	104.8	5.7	5.4	106.3	4.9	4.6
	1 000.0	97.2	4.3	4.4	104.8	7.6	7.3
MN	0.5	106.3	5.8	5.5	106.2	6.7	6.3
	25.0	102.9	4.5	4.4	105.2	5.3	5.0
	1 000.0	98.3	3.1	3.2	102.7	5.9	5.7
NMN	2.5	108.5	7.1	6.5	105.4	5.8	5.5
	25.0	102.9	6.4	6.2	107.7	4.2	3.9
	1 000.0	101.4	4.3	4.2	108.5	4.5	4.1
3-MT	5.0	107.8	7.6	7.1	108.3	6.7	6.2
	400.0	105.3	5.9	5.6	107.6	4.4	4.1
	800.0	100.9	6.2	6.1	105.1	4.2	4.0

2.4 稳定性 不同情况下尿液标本中儿茶酚胺及其

代谢产物的稳定性,见表 5。稳定性均较好,所有目的分析物浓度变化均≤6.2%。

表 5 儿茶酚胺及其代谢产物的稳定性(%)

分析物	室温放置 24 h	4℃冰箱 放置 24 h	4℃冰箱 放置 48 h	—80℃冰箱 放置 7 d
E	—1.5	0.8	1.1	1.4
NE	—2.4	—1.6	—1.9	1.8
DA	0.8	2.1	3.3	0.8
MN	1.3	0.4	0.8	0.9
NMN	—0.7	—1.1	—1.6	0.7
3-MT	0.2	2.8	6.1	5.4
HVA	5.1	5.5	6.2	4.6
VMA	4.1	5.2	5.5	4.1

2.5 临床应用

2.5.1 晨尿检测儿茶酚胺及其代谢产物的有效性 晨尿与 24 h 尿液收集这两种采样方法之间所有的分析物检测结果呈正相关($n=20, P<0.000\ 1, r: 0.93\sim0.97$,斜率:0.52~1.05)。晨尿与 24 h 尿儿茶酚胺及其代谢产物的相关性结果如下:NE 线性回归分析斜率为 0.683, $r=0.952, P<0.000\ 1$;E 线性回归分析斜率为 0.522, $r=0.905, P<0.000\ 1$;DA 线性回归分析斜率为 0.941, $r=0.964, P<0.000\ 1$;3-MT 线性回归分析斜率为 0.980, $r=0.963, P<0.000\ 1$;NMN 线性回归分析斜率为 0.622, $r=0.937, P<0.000\ 1$;MN 线性回归分析斜率为 1.050; $r=0.969, P<0.000\ 1$ 。

2.5.2 参考区间 儿茶酚胺及其代谢产物检测结果箱形图见图 1,取 $P_{2.5}$ 和 $P_{97.5}$ 建立参考区间,参考区间 NE 为 2.6~140.4 μg/g Cr,E 为 0.3~37.2 μg/g Cr,

DA 为 43.4~561.8 $\mu\text{g/g Cr}$, 3-MT 为 18.0~165.7 $\mu\text{g/g Cr}$, NMN 为 15.1~241.5 $\mu\text{g/g Cr}$, MN 为 6.8~192.0 $\mu\text{g/g Cr}$ 。

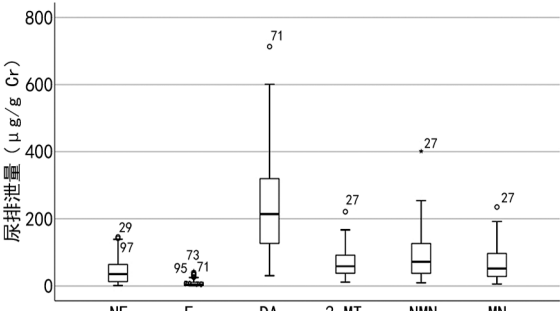


图 1 100 例健康体检者儿茶酚胺及其代谢产物检测结果箱式图

3 讨 论

嗜铬细胞瘤是一种罕见的神经内分泌肿瘤,起源于肾上腺髓质细胞,发病率约为 0.05%^[7]。嗜铬细胞瘤可大量释放儿茶酚胺,因此患者可出现各种严重的并发症,如果不能尽早诊断和治疗,会导致致命的后果^[8-10]。儿茶酚胺及其代谢产物的联合检测可提高对嗜铬细胞瘤诊断的敏感性和选择性,可辅助诊断仅分泌 DA 的特殊类型嗜铬细胞瘤,对不同生化表型嗜铬细胞瘤的鉴别也发挥着重要作用^[11-12]。临床通常通过检测尿液或血浆中的儿茶酚胺对疑似嗜铬细胞瘤患者进行筛查。然而,由于儿茶酚胺在体液中水平极低、极性高,使其准确检测十分困难^[13]。另一方面,血浆儿茶酚胺水平很低,受试者采集标本时的姿势对检测结果影响很大,准确检测采集条件要求高,如不能充分满足采集条件则不能达到临床检测性能要求^[14]。24 h 尿液采集繁琐,收集过程非常耗时且容易出错,与其相比,晨尿的留取更加方便,并且利用了与夜间卧床休息时交感肾上腺系统活性降低的优势,避免了较多原因造成的交感肾上腺系统的激活,可以提高诊断性能^[15-16]。

目前,用于儿茶酚胺及其代谢产物检测的常用方法有酶免疫检测法、液相色谱电化学分析法、LC-MS/MS。LC-MS/MS 较前两者具有诸多优势,与酶免疫检测法相比,LC-MS/MS 的灵敏度和特异度更高,前处理时间更短,并且能够准确检测前者无法检测的 3-MT;与液相色谱电化学分析法相比,LC-MS/MS 采样更便捷,标本前处理更简单,并且能够避免前者在分析时无法避免的干扰。本研究建立了检测晨尿儿茶酚胺及其代谢产物的 UPLC-MS/MS,该方法具有简单、快速、灵敏度高、选择性高的优点,用晨尿标本代替 24 h 尿液收集进行检测,使标本采集更加简单方

便,简化了 pH 值调节过程,并获得了更高的萃取效率,优化了梯度洗脱程序,在较短的运行时间内将潜在的干扰降至最低,并能获得较好的分离效果。

本研究建立了一种简单、快速,同时检测尿儿茶酚胺及其代谢产物的 UPLS-MS/MS,并且进行了方法评价。这种方法采用晨尿标本替代 24 h 尿液收集,标本采集更加简单、方便。良好的验证数据和对实际尿样检测的成功应用表明,该方法灵敏、特异、可靠,可用于儿茶酚胺及其代谢产物排泄量的监测和嗜铬细胞瘤的鉴别及辅助诊断。

参考文献

[1] EISENHOFER G, PEITZSCH M, MCWHINNEY B C. Impact of LC-MS/MS on the laboratory diagnosis of catecholamine-producing tumors[J]. Trends Analyt Chem, 2016, 84:106-116.

[2] RODRÍGUEZ-MORATÓ J, POZO Ó J, MARCOS J. Targeting human urinary metabolome by LC-MS/MS: a review [J]. Bioanalysis, 2018, 10(7): 489-516.

[3] SHEN Y, CHENG L, GUAN Q, et al. Development and validation of a liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the measurement of urinary catecholamines in diagnosis of pheochromocytoma[J]. Biomed Chromatogr, 2017, 31(11): 1-7.

[4] BERGMANN M L, SADJADI S, SCHMEDES A. Analysis of catecholamines in urine by unique LC/MS suitable ion-pairing chromatography[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1057: 118-123.

[5] 彭颖斐, 吴炯, 郭玮, 等. 尿儿茶酚胺 LC-MS/MS 检测方法的建立[J]. 检验医学, 2015, 30(5): 433-436.

[6] XIONG X, ZHANG Y. Simple, rapid, and cost-effective microextraction by the packed sorbent method for quantifying of urinary free catecholamines and metanephrines using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application in clinical analysis[J]. Anal Bioanal Chem, 2020, 412(12): 2763-2775.

[7] FARRUGIA F A, CHARALAMPOPOULOS A. Pheochromocytoma[J]. Endocr Regul, 2019, 53(3): 191-212.

[8] GU Y W, POSTE J, KUNAL M, et al. Cardiovascular manifestations of pheochromocytoma[J]. Cardiol Rev, 2017, 25(5): 215-222.

[9] DAVISON A S, JONES D M, RUTHVEN S, et al. Clinical evaluation and treatment of phaeochromocytoma[J]. Ann Clin Biochem, 2017, 55(1): 34-48.

[10] GUNAWARDANE P, GROSSMAN A. Phaeochromocytoma and paraganglioma[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 956: 239-259.

(下转第 1237 页)

- [5] FURUHASHI M. Fatty Acid-Binding protein 4 in cardiovascular and metabolic diseases[J]. J Atheroscler Thromb, 2019, 26(3):216-232.
- [6] TAN M, KORKMAZ H, AYDIN H, et al. FABP4 levels in hypothyroidism and its relationship with subclinical atherosclerosis[J]. Turk J Med Sci, 2019, 49(5): 1490-1497.
- [7] 李苑, 陈文玲, 刘岚, 等. 子痫前期孕妇胎盘组织中 PPAR、FABP-4 的表达及其与孕妇预后的相关性[J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(7):443-448.
- [8] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013:66.
- [9] 白晶, 孙丽, 张智峰. 子痫前期患者血清胎盘生长因子、胱抑素 C 水平变化及其诊断价值分析[J]. 山东医药, 2019, 59(32):64-66.
- [10] OHKUCHI A, HIRASHIMA C, TAKAHASHI K, et al. Prediction and prevention of hypertensive disorders of pregnancy[J]. Hypertens Res, 2017, 40(1):5-14.
- [11] 廖桂英, 段庆红, 周舟, 等. 彩色超声多普勒检测脐动脉血流动力学在子痫前期诊疗中的价值[J]. 贵州医科大学学报, 2019, 44(12):1453-1457.
- [12] MELIN E O, DEREKE J, THUNANDER M, et al. Soluble CD163 was linked to galectin-3, diabetic retinopathy and antidepressants in type 1 diabetes[J]. Endocr Connect, 2018, 7(12):1343-1353.
- [13] MEDEIROS L T, PERAÇOLI J C, BANNWART-CASTRO C F, et al. Monocytes from pregnant women with pre-eclampsia are polarized to a M1 phenotype[J]. Am J Reprod Immunol, 2014, 72(1):5-13.
- [14] NUNES P R, ROMÃO-VEIGA M, PERAÇOLI J C, et al. Downregulation of CD163 in monocytes and its soluble form in the plasma is associated with a pro-inflammatory profile in pregnant women with preeclampsia[J]. Immunol Res, 2019, 67(2/3):194-201.
- [15] 刘聪, 曲冬颖. 子痫前期孕妇血清可溶性血红蛋白清道夫受体及炎症因子水平变化[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(6):679-681.
- [16] KELLY C B, HOOKHAM M B, YU J Y, et al. Circulating adipokines are associated with pre-eclampsia in women with type 1 diabetes[J]. Diabetologia, 2017, 60(12):2514-2524.
- [17] QIAO G H, SUN X Z. Increased plasma fatty acid binding protein 4 concentration at the first prenatal visit and its relevance to preeclampsia[J]. Hypertens Res, 2018, 41(9):763-769.
- [18] 毛彩艳, 张辉, 李旭生, 等. FABP4 在妊娠期高血压疾病胎盘滋养细胞免疫炎症反应中的作用研究[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(8):1126-1131.
- [19] 杜伟平, 张瑞. 子痫前期孕妇血清 Gas6、SDF-1 水平变化及其临床意义[J]. 山东医药, 2019, 59(31):1-4.
- [20] YANG A, ZHANG H, SUN Y, et al. Modulation of FABP4 hypomethylation by DNMT1 and its inverse interaction with miR-148a/152 in the placenta of preeclamptic rats and HTR-8 cells[J]. Placenta, 2016, 46(1):49-62.

(收稿日期:2020-09-12 修回日期:2020-12-23)

(上接第 1232 页)

- [11] RAO J U, ENGELKE U F H, RODENBURG R J T, et al. Genotype-specific abnormalities in mitochondrial function associate with distinct profiles of energy metabolism and catecholamine content in pheochromocytoma and paraganglioma[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(14): 3787-3795.
- [12] 刘庆香, 周伟燕, 张传宝. 儿茶酚胺及其代谢物的检测现状及标准化期望[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3): 322-327.
- [13] EISENHOFER G, PREJBISZ A, PEITZSCH M, et al. Biochemical diagnosis of chromaffin cell tumors in patients at high and low risk of disease: plasma versus urinary free or deconjugated o-methylated catecholamine metabolites[J]. Clin Chem, 2018, 64(11):1646-1656.
- [14] EISENHOFER G, PEITZSCH M. Laboratory evaluation of pheochromocytoma and paraganglioma[J]. Clin Chem, 2014, 60(12):1486-1499.
- [15] DÄRR R, PAMPORAKI C, PEITZSCH M, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma using plasma-free normetanephrine, metanephrine and methoxytyramine: importance of supine sampling under fasting conditions[J]. Clin Endocrinol, 2014, 80(4):478-486.
- [16] DAVIES S L, DAVISON A S. Liquid chromatography tandem mass spectrometry for plasma metadrenolines[J]. Clin Chim Acta, 2019, 495:512-521.

(收稿日期:2020-09-12 修回日期:2020-12-23)