

· 论 著 ·

串联质谱技术检测孕妇胆汁酸谱的性能评估及其参考区间建立*

陈 辰¹, 陈亚军¹, 蒋翠莲¹, 马金飞², 李义坤², 钟天鹰^{1△}

1. 南京医科大学附属妇产医院/南京市妇幼保健院检验科, 江苏南京 210004;

2. 杭州凯莱谱医学检验实验室, 浙江杭州 310000

摘要:目的 对基于串联质谱(LC-MS/MS)技术检测胆汁酸谱的方法进行性能评估并建立适合于南京地区孕妇的 15 种胆汁酸亚型参考区间。方法 采用 LC-MS/MS 技术检测孕中期孕妇血清 15 种胆汁酸亚型, 根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)C62-A 和美国食品药品监督管理局的生物分析方法验证标准, 从定量检出限、准确度、精密度、线性、携带污染率等几个方面进行性能评估; 根据 CLSI EP28-A3c 推荐的方法和程序建立南京地区孕妇孕中期 15 种胆汁酸亚型的参考区间, 用小样本验证法对新建立的 20 例样本参考区间进行验证。结果 LC-MS/MS 技术可同时检测孕妇血清中 15 种胆汁酸亚组分, 最低定量限为标准曲线最低浓度点(S1)浓度, 最低检出限为 1/4 S1; 线性: 各种亚型均呈现良好的线性关系, r^2 均大于 0.99; 准确度: 各种亚型加标回收试验回收率均为 80%~120%, 偏倚 < 15%; 批内精密度和批间精密度变异系数均小于 15%; 携带污染率: 小于最低定量限的 25%; 孕中期孕妇参考区间: 以石胆酸为例, 新的参考区间为 0.07~13.46 ng/mL, 95% 的验证结果落于新的参考区间内。结论 LC-MS/MS 技术可以精准、快速地检测胆汁酸谱 15 种亚型, 评估结果符合各项性能验证要求; 新建立的胆汁酸谱 15 种亚型的参考区间适合于南京地区孕中期孕妇。

关键词: 串联质谱技术; 胆汁酸谱; 性能评估; 参考区间

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.16.010

中图法分类号: R446.1

文章编号: 1673-4130(2021)16-1966-06

文献标志码: A

Performance evaluation of tandem mass spectrometry for detecting bile acid profile in pregnant women and establishment of its reference interval*

CHEN Chen¹, CHEN Yajun¹, JIANG Cuilian¹, MA Jinfei², LI Yikun², ZHONG Tianying^{1△}1. Department of Clinical Laboratory, Women's Hospital of Nanjing Medical University/
Nanjing Maternity and Child Health Care Hospital, Nanjing, Jiangsu 210004, China;

2. Hangzhou Calibra Medical Laboratory, Hangzhou, Zhejiang 310000, China

Abstract: Objective To establish a method based on tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) to detect bile acid spectrum and evaluate its performance, and to establish the reference intervals of 15 bile acid subtypes for pregnant women in Nanjing. **Methods** LC-MS/MS technology was used to detect 15 bile acids in the serum of pregnant women in the second trimester of pregnancy. According to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C62-A and FDA guidelines, the performance was evaluated from several aspects, including the lower limit of measuring interval, the limit of detection, accuracy, precision, linear and carryover, etc. As recommended by the CLSI EP28-A3c, the reference intervals of 15 bile acids in the second trimester of pregnancy were established. Small sample validation method (20 cases) was used to verify the new reference interval. **Results** LC-MS/MS technology could simultaneously detect 15 bile acids in serum, the Limit of quantitation was the lowest concentration (S1) at the point of the standard curve. The limit of detection was 1/4 S1. Linear: all subtypes showed a good linear relationship, and r^2 was more than 0.99 in all subtypes. Accuracy: the recoveries of each subtype were between 80%–120%, and the bias were less than 15%. The coefficient of variation of within- and between-batch were less than 15%. The carryover was less than 25% of the limit of

* 基金项目: 2020 年度南京市卫生科技发展专项资金项目(YKK20135)。

作者简介: 陈辰, 女, 副主任技师, 主要从事基于质谱技术的脂质小分子代谢方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 13851875320@163.com。

detection. Reference intervals of pregnancy: taking LCA as an example, the new reference interval of the second trimester was 0.07–13.46 ng/mL, and 95% of the validation results fell in the new reference interval.

Conclusion LC-MS/MS technology could accurately and rapidly detect 15 subtypes of bile acid spectrum, and the evaluation results meet the performance verification requirements. The newly established reference intervals of 15 subtypes of bile acid spectrum are suitable for pregnant women in the second trimester of pregnancy in Nanjing. The established LC-MS/MS technology can effectively separate and accurately detect 15 kinds of bile acids in serum and the evaluation results are conformed to all standards. The newly established reference intervals of 15 subtypes of bile acids are suitable for pregnant women in the second trimester of pregnancy in this region.

Key words: tandem mass spectrometry; bile acid profiles; performance evaluation; reference interval

肝脏是人体重要的代谢器官,肝细胞以胆固醇为原料合成胆汁酸经胆管排入十二指肠,协助脂类物质完成消化吸收后,再通过门静脉回流被肝脏重吸收,形成胆汁酸的“肠肝循环”^[1-2]。胆汁酸的组成和结构较为复杂,按结构可分为两大类,一类是游离型胆汁酸^[3-4],包括胆酸(CA)、脱氧胆酸(DCA)、鹅脱氧胆酸(CDCA)、熊脱氧胆酸(UDCA)和石胆酸(LCA)^[5];另一类是结合型胆汁酸^[6],为游离型胆汁酸与甘氨酸或牛磺酸的结合物^[7]。多种不同类型的胆酸共同构成了胆汁酸谱。一旦肝脏或胆囊发生病变,如肝炎、肝硬化、胆石症、妊娠期胆汁淤积症(ICP)等,胆汁酸的“肠肝循环”受阻,血液中的胆汁酸水平升高,这些疾病的总胆汁酸(TBA)升高水平可能接近,但胆汁酸谱的成分不同,测定 TBA 水平对肝胆疾病的鉴别有局限性。因此,胆汁酸谱亚型检测对于肝胆疾病的诊断和治疗具有十分重要的意义。近年来有研究表明,通过质谱技术对胆汁酸谱亚型进行测定,可以有效提高肝胆疾病的诊断效率^[5]。由于以往的测定方法比较烦琐,并且没有适合于特定人群(如孕期、儿童)的胆汁酸谱参考区间,限制了其在临床实验室的推广应用。本研究拟建立一种基于高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)技术的血清胆汁酸谱检测方法,并进行性能评估,有利于孕期不同肝胆疾病的鉴别诊断,并建立适合于孕期的胆汁酸谱参考区间,以便更及时、有效地对孕期肝胆疾病进行干预。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 仪器:ABsciex 4500 三重四极杆质谱仪, Jasper 系列高效液相色谱仪(美国 ABsciex 公司);试剂:甲醇(HPLC 级,美国 Merck 公司),乙酸铵(MS 级,美国 SIGMA 公司),样本前处理试剂(含氘代内标的甲醇溶液)购自迪安生物有限公司,纯净水为市售屈臣氏蒸馏水。

1.2 混合标准品溶液配置 胆汁酸亚型标准品购自美国 SIGMA 公司,制成混标溶液后逐级稀释为 7 种浓度梯度(S1~S7 浓度比为:1:2:5:20:50:

100:200),各亚型浓度见表 1。

表 1 混标溶液各浓度点各亚型胆汁酸浓度 (ng/mL)

胆汁酸	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
CA	10.0	20.0	50.0	200.0	500.0	1 000.0	2 000.0
DCA	10.0	20.0	50.0	200.0	500.0	1 000.0	2 000.0
CDCA	10.0	20.0	50.0	200.0	500.0	1 000.0	2 000.0
UDCA	10.0	20.0	50.0	200.0	500.0	1 000.0	2 000.0
LCA	2.5	5.0	12.5	50.0	125.0	250.0	500.0
GCA	30.0	60.0	150.0	600.0	1 500.0	3 000.0	6 000.0
GDCA	15.0	30.0	75.0	300.0	750.0	1 500.0	3 000.0
GCDCA	20.0	40.0	100.0	400.0	1 000.0	2 000.0	4 000.0
GUDCA	20.0	40.0	100.0	400.0	1 000.0	2 000.0	4 000.0
GLCA	2.5	5.0	12.5	50.0	125.0	250.0	500.0
TCA	20.0	40.0	100.0	400.0	1 000.0	2 000.0	4 000.0
TDCA	5.0	10.0	25.0	100.0	250.0	500.0	1 000.0
TCDCa	5.0	10.0	25.0	100.0	250.0	500.0	1 000.0
TUDCA	2.5	5.0	12.5	50.0	125.0	250.0	500.0
TLCA	2.5	5.0	12.5	50.0	125.0	250.0	500.0

注:GCA 为甘氨酸胆酸, GDCA 为甘氨酸脱氧胆酸, GCDCA 为甘氨酸鹅脱氧胆酸, GUDCA 为甘氨酸熊脱氧胆酸, GLCA 为葡萄糖石胆酸, TCA 为牛磺胆酸, TDCA 为牛磺脱氧胆酸, TCDCa 为牛磺鹅脱氧胆酸, TUDCA 为牛磺脱氧胆酸, TLCA 为牛磺石胆酸。

1.3 样本收集 随机选取南京医科大学附属妇产医院 2018 年 7—8 月产科门诊某诊室所有孕中期初次常规产前检查表现健康孕妇。纳入标准:年龄 22~40 岁,孕周 14~28 周。剔除标准:肝胆疾病、肝功能异常,心血管疾病及肾脏病等慢性病,以及吸烟、酗酒等不良生活习惯。空腹抽血后立即离心,剔除溶血、脂血样本于一 80 °C 保存,共 146 例入组。随机选取其中 126 例用于建立 15 种亚型参考区间,其余 20 例用于验证参考区间。

1.4 方法

1.4.1 样本处理 取 50 μL 样本,加入 120 μL 前处理液,漩涡 10 min,4 °C 下 14 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液 100 μL 待测。

1.4.2 色谱条件 安捷伦 Eclipse XDB-C18(4.6×150 mm,5 μm) 色谱柱;柱温 50 ℃;流动相 A:纯净水,流动相 B:纯甲醇(HPLC 级,含 5 mmol/L 乙酸铵);流速:0.85 mL/min,采用梯度洗脱:0.0~0.8 min,65% B,0.8~2.8 min,65%~82% B,2.8~3.2 min,82%~83% B,3.2~5.3 min,83%~85% B,

5.3~5.4 min,85% B,5.4~7.5 min,85%~98% B,7.5~9.0 min,65% B。进样量:10 μL。

1.4.3 质谱条件 电喷雾离子源、负离子扫描模式、MRM 多反应监测模式、离子源温度 550 ℃。15 种胆汁酸亚型质谱优化参数及保留时间见表 2。

表 2 15 种胆汁酸亚型质谱优化参数及保留时间

胆汁酸	离子对 (m/z)	保留时间 (s)	去簇电压 (V)	碰撞能量 (V)	碰撞室射出电压 (V)	入口电压 (V)
CA	407.200/407.200	4.68	-150	-30	-20	-10
DCA	391.300/391.300	5.52	-140	-30	-17	-10
CDCA	391.300/392.300	5.35	-140	-27	-20	-10
UDCA	391.400/391.400	4.12	-140	-30	-7	-10
LCA	375.300/375.300	6.61	-120	-23	-20	-10
GCA	464.300/74.100	3.78	-120	-75	-7	-10
GDCA	448.300/74.200	4.58	-140	-75	-20	-10
GCDCA	448.400/74.100	4.44	-140	-72	-20	-10
GUDCA	448.300/74.200	3.48	-135	-71	-19	-10
GLCA	432.300/74.000	5.05	-135	-71	-19	-10
TCA	514.200/80.100	3.58	-120	-125	-20	-10
TDCA	498.200/80.000	4.46	-120	-120	-21	-10
TCDCa	498.300/80.000	4.25	-110	-120	-10	-10
TUDCA	498.300/80.100	3.05	-120	-120	-10	-10
TLCA	482.300/80.000	4.74	-130	-120	-5	-10

1.5 性能评估 参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)C62-A 文件^[8]和美国食品药品监督管理局的生物分析方法验证导则标准^[9]对建立的 LC-MS/MS 技术测定胆汁酸谱的方法进行基本分析性能验证。

1.5.1 最低定量限(LLMI)和最低检出限(LoD) 取混合标准品溶液 S1,稀释至 1/4S1、1/8S1,3 种浓度重复测定 10 次,分别计算 15 种亚型 10 次测定结果的平均值,计算标准差(s)、变异系数(CV)、偏倚(Bias),以 CV<20%,Bias<15%,S/N>20 为 LLMI 可接受标准,以 CV<20%,Bias<15%,S/N>3 为 LoD 可接受标准^[8]。

1.5.2 线性评价 将混合标准品溶液 S6 浓度作为高值(H),S2 浓度作为低值(L),按照 4H、3H+L、2H+2L、3L+H、4L 配制成 5 种不同浓度的溶液,每种浓度重复检测 5 次,计算均值、CV、与理论值的 Bias,CV<15%、Bias<15%,计算出回归方程,且 r²>0.99,即可判为线性^[8]。

1.5.3 准确度评价 健康人混合血浆混匀后取 3 份,每份 1 mL,分别添加不同体积的混合标准品 S1 溶液(10、30、100 μL),检测样本中 15 种胆汁酸亚型

浓度,每份样本重复检测 5 次取均值,计算加标回收率,并与理论值进行比较,计算 Bias。Bias<15%,且加标回收率需满足 80%~120%,即判断为可接受^[8]。

1.5.4 精密度评价 批内精密度:健康人混合血浆混匀后取 3 份,每份 1 mL,分别添加相同体积不同浓度的混合标准品溶液(S2、S4、S6),制成低值、中值、高值样本,检测 3 份样本中 15 种胆汁酸亚型水平,每份样本重复检测 20 次取均值,计算 s 和 CV,CV<15% 即判断为可接受。批间精密度:将上述加标处理后的 3 份血浆分别用 EP 管分装,-20 ℃冰冻保存,使用前 37 ℃快速复融,使用相同批号的试剂每天测定 4 次,连续 5 d,计算 s 和 CV,CV<15% 即判断为可接受。

1.5.5 携带污染情况 采用混合标准品溶液 S3、S5、S7 依次进样后,用甲醇作为空白样本进样,测定空白的峰面积响应,连续反复 5 次,以每次测得的峰面积响应值小于 LoD 响应值的 25% 为通过标准^[8]。

1.6 本地区正常孕妇胆汁酸谱参考区间的建立和验证 根据 CLSI EP28-A3c^[9]文件推荐的方法和程序,采用 Dixon 法剔除离群值后,最终入组 126 例,拟建立适合于南京地区表观健康孕中期孕妇胆汁酸谱各

组分参考区间。根据小样本验证法^[10],选择剩余 20 例参考个体进行检测,将结果与待验证的参考区间进行比较,若超出参考区间的数量不超过 2 例,则通过验证;如超过 2 例,则另选择 20 例合格参考个体重复以上验证过程。

1.7 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计软件对孕妇胆汁量资料做正态性检验,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 计算生物参考区间;非正态分布的计量资料以 $[M(P_{25}, P_{75})]$ 表示,以单侧 95% 百分位数计算生物参考区间。采用 Microsoft Office Excel 2003 计算 \bar{x} 、CV 和回收率。曲线回归系数采用 Pearson 相关分析。

2 结 果

2.1 LLMI 和 LoD 稀释标准品,当标准品浓度为混合标准品浓度 S1 时,重复检测 10 次,满足每种亚型 CV 均 <15%,且 S<10%,信噪比 >20:1,各种亚型的 LLMI 为混合标准品曲线中 S1 的浓度。而浓度在 1/4 S1 时,信噪比满足 >3:1, CV 和 s 满足 LoD 的要求,但不能满足 LLMI 的要求,故 1/4 S1 浓度为该胆汁酸谱检测方法的 LoD。

2.2 线性范围 通过 7 种不同的浓度点构建标准曲线。以质量浓度(ng/mL)为 X 轴,各胆汁酸扣除空白后的峰面积与内标峰面积之比为 Y 轴,进行线性回归分析,得到 15 种胆汁酸的线性回归方程和回归系数。15 种胆汁酸在仪器检测范围内呈良好的线性关系,线性范围满足临床检测需求, r^2 为 0.993 ~ 0.999,均大于 0.990,符合线性范围验证的要求。见表 3。

2.3 准确度及精密度 加标后测定 3 种浓度(低、中、高)的血清样本 15 种胆汁酸亚型的平均加标回收率均满足 80%~120%,且 Bias<15%,符合准确度评估要求;3 种浓度的血清样本 15 种亚型批内精密度和批间精密度的最大 CV 分别为 13.26%和 11.38%,均小于 15%,满足精密度评估要求。见表 4。

2.4 携带污染率 15 种胆汁酸亚型 5 次高值进样后

的空白残留最大峰面积响应值为 7 000,远远小于最低定量检出限响应值的 25%(16 000),因此可认为该法不存在明显的携带污染。

2.5 表观健康孕妇 15 种胆汁酸亚型结果参考区间的建立及验证 剔除离群值后,共 122 例表观健康孕妇的结果数据入组,建立正常孕妇孕中期 15 种胆汁酸亚型生物参考区间。经 SPSS21.0K-S 检验后,除 LCA 符合正态分布,以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 计算生物参考区间外,其余 14 项数据均为正偏态分布,以左侧 95%百分位数计算。其中毒性最大的 LCA 参考区间为 0.07~13.46 ng/mL,而具有解毒治疗作用的 UDCA 参考区间为 0.00~122.33 ng/mL,见表 5。选取之前未参加试验的 20 例健康孕中期孕妇,用上述 LC-MS/MS 技术检测血清胆汁酸谱,15 种亚型超出上述参考区间范围的仅为 1 例,说明 95%的结果落在参考范围之内,验证通过。

表 3 15 种胆汁酸亚型拟合标准曲线和检测线性范围

胆汁酸	回归方程	线性范围 (ng/mL)	r^2
CA	$Y=40.5X-0.0207$	10.0~2 000.0	0.994 6
DCA	$Y=58.2X-0.1000$	10.0~2 000.0	0.996 2
CDCA	$Y=53.4X+0.0524$	10.0~2 000.0	0.995 5
UDCA	$Y=38.1X+0.0979$	10.0~2 000.0	0.994 7
LCA	$Y=56.8X+0.0527$	2.5~500.0	0.996 4
GCA	$Y=11.7X-0.0401$	30.0~6 000.0	0.996 9
GDCA	$Y=12.8X+0.0551$	15.0~3 000.0	0.993 7
GCDCA	$Y=12.3X-0.0479$	20.0~4 000.0	0.995 9
GUDCA	$Y=9.73X-0.0330$	20.0~4 000.0	0.996 6
GLCA	$Y=14.1X+0.0023$	2.5~500.0	0.995 6
TCA	$Y=14.9X+0.0512$	20.0~4 000.0	0.995 9
TDCA	$Y=44.8X-0.0391$	5.0~1 000.0	0.998 4
TCDC	$Y=33.1X-0.1020$	5.0~1 000.0	0.998 2
TUDCA	$Y=13.6X-0.0028$	2.5~500.0	0.994 4
TLCA	$Y=49.9X+0.0651$	2.5~500.0	0.994 0

表 4 准确度及精密度(%)

胆汁酸	浓度 1			浓度 2			浓度 3		
	加标回收率	批内 CV	批间 CV	加标回收率	批内 CV	批间 CV	加标回收率	批内 CV	批间 CV
CA	98.40	4.63	8.28	98.12	6.54	8.37	108.28	8.28	6.93
DCA	93.81	2.67	7.02	95.57	6.19	7.35	103.52	3.24	6.74
CDCA	97.42	2.67	8.06	95.58	6.44	7.26	105.35	4.03	7.35
UDCA	111.45	5.43	10.33	102.85	3.33	7.88	107.49	1.96	7.05
LCA	95.10	12.79	11.73	92.53	8.68	9.35	106.45	7.80	8.07
GCA	98.05	3.97	9.13	97.12	5.93	8.06	107.96	5.08	7.68

续表 4 准确度及精密度 (%)

胆汁酸	浓度 1			浓度 2			浓度 3		
	加标回收率	批内 CV	批间 CV	加标回收率	批内 CV	批间 CV	加标回收率	批内 CV	批间 CV
GDCA	103.93	6.24	10.19	98.69	4.22	8.53	107.61	3.51	8.37
GCDCA	103.43	8.12	8.12	93.61	5.23	6.66	108.85	6.19	8.16
GUDCA	93.96	5.70	9.45	95.74	6.12	8.50	108.23	4.31	7.41
GLCA	97.10	8.16	8.84	97.89	8.51	8.82	99.52	6.04	8.24
TCA	90.66	7.22	7.64	85.58	6.21	7.14	92.72	8.22	7.35
TDCA	94.04	7.63	8.86	94.34	4.64	8.39	106.10	7.05	8.21
TCDCa	104.95	5.75	7.69	103.00	9.38	6.69	103.95	9.37	8.04
TUDCA	104.85	13.26	11.38	101.92	8.24	10.46	104.51	8.32	8.74
TLCA	95.37	6.34	8.29	92.32	14.35	10.17	104.64	9.38	8.18

表 5 健康孕妇孕中期 15 种胆汁酸亚型生物参考区间

胆汁酸	峰度	偏度	数据分布形态	参考区间(ng/mL)
CA	11.32	3.16	正偏态	0.00~324.70
DCA	4.07	1.59	正偏态	0.00~370.90
CDCA	4.08	2.00	正偏态	0.00~288.65
UDCA	14.19	3.46	正偏态	0.00~122.33
LCA	0.66	0.43	正态	0.07~13.46
GCA	6.31	2.31	正偏态	0.00~314.75
GDCA	6.86	2.12	正偏态	0.00~332.00
GCDCA	0.94	1.25	正偏态	0.00~637.30
GUDCA	10.20	2.99	正偏态	0.00~85.01
GLCA	3.82	1.68	正偏态	0.00~8.96
TCA	2.23	1.54	正偏态	0.00~135.95
TDCA	9.58	2.84	正偏态	0.00~156.60
TCDCa	1.90	1.25	正偏态	0.00~211.80
TUDCA	6.32	2.47	正偏态	0.00~11.93
TLCA	2.23	1.45	正偏态	0.00~6.84

3 讨论

近年来,胆汁酸各种亚型作为信号分子在孕期能量代谢中发挥的作用,成为代谢研究的热点^[11-13]。本研究基于 LC-MS/MS 技术建立一种简单、快速测定胆汁酸谱的方法。用胆汁酸各种亚型标准品和对应氘代物建立标准曲线,以达到精准定量的目的。LC-MS/MS 技术灵敏度高、特异性好,近年来已被用于总胆汁酸谱的临床检测。与之前报道的方法比较,LC-MS/MS 技术在样本前处理上使用了成本低廉的甲醇,且将蛋白沉淀涡旋后的离心时间延长为 4 ℃下 10 min,最大程度去除杂质。在保证检测灵敏度的前提下,摒除了氮吹复融步骤,以减少操作误差。为保证检测体系的弱碱性,避免酸性物质的离子抑制作用,在流动相 B 中添加了 5 mmol/L 乙酸铵。由于 15 种

胆汁酸各种亚型在水中的溶解度差异较大,并存在 3 组同分异构体,故对其梯度进行优化,降低了初始流动相中水相的比例,每一种同分异构体亚型都呈现出较好的分离效果。每份样本 15 种胆汁酸亚型的检测时长仅为 9 min,极大提升了检测效率。

鉴于长江中下游地区为孕期 ICP 高发地区^[14],南京市妇幼保健院为妇产科专科医院,患者以孕产妇为主,不应直接套用健康人群参考区间。本研究建立了适合于本地区孕中期孕妇胆汁酸谱参考区间并通过验证,有利于孕期不同肝胆疾病的鉴别诊断,指导临床及时有效地对孕期肝胆疾病进行干预。

本研究具有一定的临床应用价值,基于质谱技术建立的方法可以精准、快速地定量检测胆汁酸谱,同时检测胆汁酸谱中的 15 种亚型,有利于肝胆疾病的鉴别诊断。本研究建立了适合于本地区孕妇胆汁酸谱的参考区间,利用胆汁酸谱检测结果可指导孕期肝胆疾病的诊疗。

参考文献

- [1] MANZOTTI C, CASAZZA G, STIMAC T, et al. Total serum bile acids or serum bile acid profile, or both, for the diagnosis of intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2019, 7(7): CD012546.
- [2] CUI Y, XU B, ZHANG X, et al. Diagnostic and therapeutic profiles of serum bile acids in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy—a pseudo-targeted metabolomics study[J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 483: 135-141.
- [3] JOYCE S A, GAHAN C G. Disease-associated changes in bile acid profiles and links to altered gut microbiota[J]. *Dig Dis*, 2017, 35(3): 169-177.
- [4] DIAL E J, DAWSON P A, LICHTENBERGER L M. In vitro evidence that phosphatidylcholine protects against indomethacin/bile acid-induced injury(下转第 1976 页)

- cancer and idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(3):515-518.
- [4] 王玲,申鸿. 癌胚抗原、糖类抗原、CA125、血管生成素、细胞角蛋白 19 片段及甲胎蛋白检测在肺癌诊断中的临床研究[J]. *陕西医学杂志*, 2019, 48(8):1080-1084.
- [5] 黎增辉. 血清 AFP-L3%, CA125, CA19-9 和 IL-6 变化与乙肝后肝硬化和癌变的相关性研究[J]. *临床输血与检验*, 2019, 21(5):535-539.
- [6] 郑凤英,靳国荣,刘亚非,等. 糖类抗原 199、癌胚抗原和甲胎蛋白联合检测诊断卵巢癌的价值[J]. *海南医学*, 2018, 29(1):74-76.
- [7] 王艳艳. 癌胚抗原、糖类抗原 199 及甲胎蛋白联合检测对结直恶性肿瘤的诊断价值分析[J]. *中国医学工程*, 2019, 27(4):100-103.
- [8] 上海慢性肾脏病早发现及规范化诊治与示范项目专家组. 慢性肾脏病筛查诊断及防治指南[J]. *中国实用内科杂志*, 2017, 37(1):28-34.
- [9] 孙钰,刘锋,李娜,等. 慢性肾脏病患者营养不良与肠道菌群紊乱之间关系的研究[J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(2):362-364.
- [10] 王善志,朱永俊,李国铨,等. 中国成人慢性肾脏病患病率的 Meta 分析结果及对比[J]. *中华肾脏病杂志*, 2018, 34(8):579-586.
- [11] HAO C, ZHANG G, ZHANG L. Serum CEA levels in 49 different types of cancer and noncancer diseases[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 162(1):213-227.
- [12] MACCIO G, GOUSSOT V, BERRIOLO-RIEDINGER A, et al. Clinical value of CEA for detection of distant metastases in newly diagnosed breast cancer: comparison with CA15-3[J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2017, 75(4):431-441.
- [13] 安雪青,吕健东,苏锋,等. 血清 SDF-1 联合 CXCL5 及 CEA 联合检测用于乳腺癌诊断的敏感度与特异性分析[J]. *中国实验诊断学*, 2018, 22(1):14-17.
- [14] GE L, PAN B, SONG F, et al. Comparing the diagnostic accuracy of five common tumour biomarkers and CA19-9 for pancreatic cancer: a protocol for a network meta-analysis of diagnostic test accuracy[J]. *BMJ Open*, 2017, 7(12):e018175.
- [15] 蒋东葵,陈兆亚,马冬梅,等. 血清胃泌素释放肽前体、甲胎蛋白和糖类抗原 199 单项及联合检测在卵巢癌诊断中的价值[J]. *诊断学理论与实践*, 2019, 18(2):209-214.
- [16] 段瑞娟. 血清糖类抗原 125 糖类抗原 199 甲胎蛋白癌胚抗原水平测定在肝硬化患者临床分析中的应用价值[J]. *实用医技杂志*, 2019, 26(1):15-17.
- [17] 钱文娟,顾毅峰. 血液透析、血液透析滤过与高通量血液透析治疗终末期肾脏疾病的疗效对比分析[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2018, 38(3):455-460.
- [18] 范卉. 肾病综合征患者血清肿瘤标志物检测及影响因素分析[D]. 长春:吉林大学, 2018.
- [19] 林少唯,游含宇. 慢性肾功能衰竭患者血清 ProGRP、CY-FRA21-1、SCCA 及 Cr 水平分析[J]. *福建医药杂志*, 2018, 40(5):98-99.
- [20] 蔡莎莎,邹金艳,任应鹏,等. 卵巢良性肿瘤合并慢性肾脏病患者人附睾蛋白 4 水平的临床分析[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2019, 27(6):436-439.

(收稿日期:2020-10-23 修回日期:2021-03-11)

(上接第 1970 页)

- to cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 308(3):217-222.
- [5] PATAIA V, MCILVRIDE S, PAPACLEOVOULOU G, et al. Obeticholic acid improves fetal bile acid profile in a mouse model of gestational hypercholanemia[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2020, 319(2):197-211.
- [6] BICOCCA M J, SPERLING J D, CHAUHAN S P. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: review of six national and regional guidelines[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2018, 231:180-187.
- [7] LIU T, WANG R X, HAN J, et al. Comprehensive bile acid profiling in hereditary intrahepatic cholestasis: genetic and clinical correlations[J]. *Liver Int*, 2018, 38(9):1676-1685.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute. Liquid chromatography-mass spectrometry methods: C62-A [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory, 3rd edition: EP28-A3c[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
- [10] 中华人民共和国卫生部.《临床实验室检验项目参考区间的制定》:WS/T 402-2012 [S]. 北京:中国标准出版社, 2012.
- [11] VASAVAN T, DEEPAK S, JAYAWARDANE I A, et al. Fetal cardiac dysfunction in intrahepatic cholestasis of pregnancy is associated with elevated serum bile acid concentrations[J]. *Hepatology*, 2021, 74(5):1087-1096.
- [12] PARÍZEK A, HILL M, DUSKOVÁ M, et al. A comprehensive evaluation of steroid metabolism in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8):e0159203.
- [13] JIAO N, BAKER S S, CHAPA-RODRIGUEZ A, et al. Suppressed hepatic bile acid signalling despite elevated production of primary and secondary bile acids in NAFLD [J]. *Gut*, 2018, 67(10):1881-1891.
- [14] ZHU B, YIN P, MA Z, et al. Characteristics of bile acids metabolism profile in the second and third trimesters of normal pregnancy[J]. *Metabolism*, 2019, 95:77-83.

(收稿日期:2021-01-12 修回日期:2021-03-28)