

• 论 著 •

子痫前期患者血清代谢物水平及其与疾病严重程度的相关性研究*

樊娜娜¹, 詹 瑛^{1△}, 徐 文², 王 青³, 种莹莹³, 刘世国¹

青岛大学附属医院: 1. 产科; 2. 药学部, 山东青岛 266003; 3 枣庄市妇幼保健院产科, 山东枣庄 277000

摘 要:目的 检测子痫前期患者血清中的代谢物水平, 并探讨其与疾病严重程度的相关性及其联合检测对重度子痫前期患者的诊断价值。**方法** 选取 2019 年 5—12 月在青岛大学附属医院就诊的子痫前期患者 40 例作为观察组, 包括轻度子痫前期患者 20 例, 重度子痫前期患者 20 例, 同时另选取同期健康妊娠孕妇 20 例为对照组。采用基于液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)的代谢组学研究技术, 分别对各组孕妇血清中 5 种代谢物的水平进行测定, 利用 Analyst1. 6. 3 质谱数据处理软件分析处理得出数据, 采用单因素方差分析、*t* 检验、秩和检验和 Spearman 相关性分析, 对数据进行统计学分析, 采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清甜菜碱、脯氨酸、1-硬脂酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱(LPC18:0)及联合检测对重度子痫前期患者的诊断效能。**结果** 观察组血清 LPC18:0 水平高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。重度子痫前期组血清甜菜碱、脯氨酸水平低于轻度子痫前期组、对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 重度子痫前期组、轻度子痫前期组血清 LPC18:0 水平均高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 相关性分析结果显示, 血清甜菜碱与子痫前期的病情程度呈负相关($r=-0.317, P<0.05$), 血清 LPC18:0 与子痫前期的病情程度呈正相关($r=0.618, P<0.05$); 血清甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0 联合检测重度子痫前期患者的 ROC 曲线下面积为 0.907, 灵敏度为 85%, 特异度为 90%, 具有较高的诊断价值。**结论** 子痫前期患者随着病情加重, 血清甜菜碱、LPC18:0 水平与子痫前期病情程度具有一定的相关性, 血清甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0 联合检测对重度子痫前期患者诊断具有较高的诊断价值。

关键词:子痫前期; 代谢物; 液相色谱-串联质谱; 代谢组学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.05.013 **中图法分类号:**R714.244

文章编号:1673-4130(2021)05-0568-06 **文献标志码:**A

Study on serum metabolite level and its correlation with disease severity in patients with preeclampsia*

FAN Nana¹, ZHAN Ying^{1△}, XU Wen², WANG Qing³, CHONG Yingying³, LIU Shiguo¹

1. Department of Obstetrics; 2. Department of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266003, China; 3. Department of Obstetrics, Maternal and Child Health Care Hospital of Zaozhuang, Zaozhuang, Shandong 277000, China

Abstract: Objective To detect the levels of serum metabolites in patients with preeclampsia, explore the correlations with severity of preeclampsia, and the diagnostic value of combined detection in severe preeclampsia. **Methods** From May to December 2019, 40 cases of preeclampsia who were admitted in the affiliated hospital of Qingdao university were selected as the observation group, including 20 patients with mild preeclampsia and 20 patients with severe preeclampsia, meanwhile, 20 normal pregnant women of the same period were selected as the control group. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to determine the five metabolites in the serum of three groups of pregnant women. The data were analyzed and processed by Analyst1. 6. 3 mass spectrometry data processing software. The data were statistically analyzed by One-way analysis of variance, *t*-test, rank sum test and Spearman. The diagnostic efficacy of serum betaine, proline, 1-stearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (LPC18:0) and combined detection in severe preeclampsia was

* 基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2019MH127)。
作者简介: 樊娜娜, 女, 主治医师, 主要从事产科研究。 △ 通信作者, E-mail: zbdu2005@163.com。
本文引用格式: 樊娜娜, 詹瑛, 徐文, 等. 子痫前期患者血清代谢物水平及其与疾病严重程度的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(5): 568-573.

analyzed by receiver operating characteristic curve(ROC curve). **Results** The level of serum LPC18:0 in observation group was higher than that in control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Serum betaine and proline levels in severe preeclampsia group were lower than those in mild preeclampsia group and control group, with statistical significance ($P < 0.05$). The level of serum LPC18:0 in severe preeclampsia group and mild preeclampsia group was higher than that in control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that the Serum of betaine was negatively correlated with severity of preeclampsia ($r = -0.317, P < 0.05$). The serum of LPC18:0 was positively correlated with severity of preeclampsia ($r = 0.618, P < 0.05$). The area under ROC curve of serum betaine, proline and LPC18:0 was 0.907, the sensitivity was 85%, the specificity was 90%, and it had high diagnostic value. **Conclusion** With the exacerbation of preeclampsia, the level of serum betaine and LPC18:0 is correlated with the severity of preeclampsia. The combined detection of serum betaine, proline and LPC18:0 is of high diagnostic value in the diagnosis of severe preeclampsia.

Key words: preeclampsia; metabolites; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; metabolomics

子痫前期是在妊娠 20 周以后发生的以高血压和蛋白尿(或脏器损害)为特征的多器官疾病,可严重影响母婴健康。将高血压和蛋白尿作为子痫前期的诊断标准,远不足以体现子痫前期的病理生理学特征^[1],且诊断后再进行干预为时已晚。目前认为,子痫前期发病主要与胎盘浅着床、免疫反应、血管内皮受损、遗传因素、炎性反应、胰岛素抵抗等有关^[2]。有研究者报道甜菜碱具有抗氧化、降压作用,脯氨酸对机体应激有保护活性,溶血性磷脂酰胆碱可损伤内皮细胞^[3-4]。这些小分子可能参与子痫前期的发生、发展。有学者用电喷雾液质联用四级杆飞行时间质谱(LC-Q-TOF)设备监测出甜菜碱和脯氨酸是诊断重度子痫前期潜在灵敏和特异的生物标志物^[5],谭兵等^[6]用 LC-Q-TOF 设备筛选出 1-硬脂酰-sn-甘油-3-磷脂酰胆碱(LPC18:0)在重度子痫前期孕妇及健康孕妇存在差异。L-异亮氨酸是人体内必需支链氨基酸,丙氨酸水平增加导致儿茶酚胺水平升高,有研究发现子痫前期孕妇血清 L-异亮氨酸和苯丙氨酸水平升高^[7]。然而 LC-Q-TOF 设备侧重于定性分析,而液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)专注于定量分析。LC-MS/MS 是一种代谢组学技术,其代谢谱的分析技术是针对性的,对预设代谢物进行定量或半定量测定,验证出有意义的生物标志物,而且在测定标本前经过系统的方法学验证,结果更准确。本文利用 LC-MS/MS 对可能与子痫前期有关的小分子代谢物如甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0、L-异亮氨酸、苯丙氨酸进行验证性研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 5—12 月青岛大学附属医院就诊的子痫前期患者共 40 例作为观察组,包

括轻度子痫前期组孕妇 20 例,重度子痫前期组孕妇 20 例,另选取同期健康孕妇 20 例作为对照组。重度子痫前期、轻度子痫前期的诊断标准依据妊娠期高血压疾病诊治指南(2015)^[8],子痫前期定义为妊娠 20 周后出现收缩压 ≥ 140 mm Hg 和(或)舒张压 ≥ 90 mm Hg,且伴有下列任一项:尿蛋白 ≥ 0.3 g/24 h,或尿蛋白/肌酐比值 ≥ 0.3 ,或随机尿蛋白 $\geq (+)$,血压和(或)尿蛋白水平持续升高,发生母体器官功能受损或胎盘-胎儿并发症是子痫前期病情向重度发展的表现。排除标准:慢性高血压、肾病、糖尿病、心血管疾病、肝病、多胎妊娠、自身免疫性疾病、甲状腺疾病等。所有纳入研究的孕妇均签署了知情同意,并经青岛大学附属医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 Agilent 1290 II 高效液相色谱仪(配备 G7120 高压二元泵, G7167B 自动进样器, G7116B 柱温箱,美国 Agilent 公司);API4000+三重四极杆串联质谱系统,Analyst 1.6.3 质谱数据处理软件(美国 AB 公司)。

甜菜碱(纯度 99%)、脯氨酸(纯度 99%)、苯丙氨酸(纯度 99%)、LPC18:0(纯度 $>99\%$)、L-异亮氨酸(纯度 99%)由上海蔚霆生物科技有限公司提供;甲醇、乙腈和甲酸(色谱纯,德国 Merck 公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品预处理 采集研究对象晨起空腹静脉血液 5 mL 于促凝管中,3 000 r/min 速度的条件下离心 10 min,取上清液作为样品储存于 -80 °C 冰箱中。将样本血清 4 °C 解冻后,取 100 μ L 与 30 μ L 甲醇混合,涡旋振荡 30 s 后, 4 °C 下静置 5 min。将混合物在 4 °C,离心半径为 8 cm,12 000 r/min 的条件下离心 5 min,取 5 μ L 上清液得到待测样品。

1.3.2 样本分析 色谱条件色谱柱为 Ultimate AQ-C18 column(3.0 μm , 2.1 mm $\times$ 100 mm, 上海月旭科技有限公司);流动相乙腈(A)-0.1%的甲酸溶液(B)梯度洗脱(0.0~0.5 min, 8% A; 0.5~1.0 min, 8% $\rightarrow$ 100% A; 1.0~6.0 min, 100% A);流速为 0.4 mL/min;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;进样量为 5 μL 。质谱条件采用电喷雾离子源(ESI)。(1)正离子模式,质谱参数:碰撞气 6×10^4 Pa,气帘气 2×10^5 Pa,雾化气 4.48×10^5 Pa,辅助气 4.48×10^5 Pa,喷雾电压 5 500 V,雾化温度 550 $^{\circ}\text{C}$ 。(2)负离子模式,质谱参数:碰撞气 6×10^4 Pa,气帘气 2×10^5 Pa,雾化气 4.48×10^5 Pa,辅助气 4.48×10^5 Pa,喷雾电压 4 500 V,雾化温度 550 $^{\circ}\text{C}$ 。甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0、L-异亮氨酸的质谱条件采用电喷雾离子源为正离子模式,苯丙氨酸的质谱条件采用电喷雾离子源为负离子模式,具体多反应监测(MRM)条件见表 1。

表 1 甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0、L-异亮氨酸、
苯丙氨酸的 MRM 条件

项目	去簇电压(V)	碰撞电压(V)	母离子	子离子
甜菜碱	40	35	118.1	86.1
脯氨酸	40	18	116.0	70.2
LPC18:0	60	40	524.7	184.2
L-异亮氨酸	20	13	132.0	86.1
苯丙氨酸	60	15	164.1	72.2

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;3 组间比较采用单因素方差分析,非正态分布的计量资料结果用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表

示,组间比较采用秩和检验,相关性分析采用 Spearman 相关性分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)计算曲线下面积(AUC),用以评估特征代谢物的诊断效能。

2 结 果

2.1 各组孕妇临床资料比较 重度子痫前期组、轻度子痫前期组在年龄、体质量指数、分娩孕周方面与对照组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 各组临床资料比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	体质量指数 (kg/m ²)	分娩孕周 (周)
重度子痫前期组	20	28.85 $\pm$ 4.93	30.21 $\pm$ 4.39	34.86 $\pm$ 3.07
轻度子痫前期组	20	30.10 $\pm$ 5.67	30.35 $\pm$ 5.87	35.25 $\pm$ 2.01
对照组	20	30.80 $\pm$ 5.47	27.87 $\pm$ 3.96	35.12 $\pm$ 1.71
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05

2.2 典型色谱图 甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0、L-异亮氨酸、苯丙氨酸典型色谱图见图 1。

2.3 观察组和对照组血清指标水平比较 观察组血清 LPC18:0 水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 各组血清指标水平比较 重度子痫前期组血清甜菜碱、脯氨酸水平低于轻度子痫前期组、对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);重度子痫前期组、轻度子痫前期组血清 LPC18:0 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);各组血清苯丙氨酸、L-异亮氨酸水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

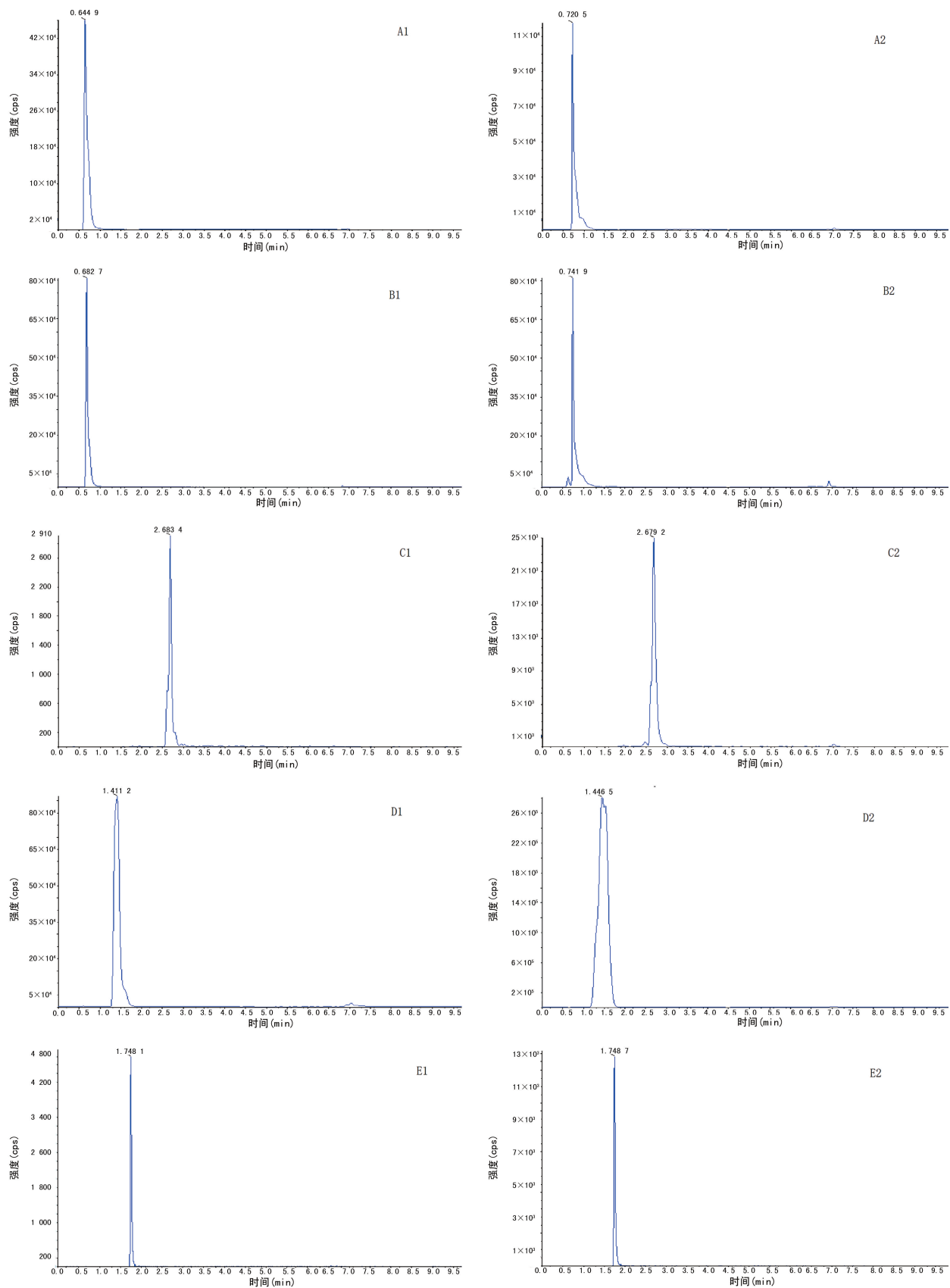
表 3 观察组和对照组血清指标水平比较($\mu\text{g/mL}$)

组别	<i>n</i>	甜菜碱($\bar{x}\pm s$)	脯氨酸($\bar{x}\pm s$)	LPC18:0[$M(P_{25}, P_{75})$]	L-异亮氨酸[$M(P_{25}, P_{75})$]	苯丙氨酸($\bar{x}\pm s$)
观察组	40	1.68 $\pm$ 0.49	22.24 $\pm$ 5.53	20.15(8.92, 17.15)	21.04(13.81, 27.95)	16.97 $\pm$ 7.57
对照组	20	1.86 $\pm$ 0.34	24.08 $\pm$ 4.58	10.96(9.86, 11.83)	16.61(14.07, 26.02)	21.61 $\pm$ 5.56
<i>t/Z</i>		1.45	1.15	-3.18	-0.51	0.09
<i>P</i>		0.15	0.25	0.00	0.61	0.70

表 4 各组血清指标水平比较($\mu\text{g/mL}$)

项目	<i>n</i>	甜菜碱($\bar{x}\pm s$)	脯氨酸($\bar{x}\pm s$)	LPC18:0[$M(P_{25}, P_{75})$]	L-异亮氨酸[$M(P_{25}, P_{75})$]	苯丙氨酸($\bar{x}\pm s$)
重度子痫前期组	20	1.52 $\pm$ 0.49	20.51 $\pm$ 4.65	16.34(13.94, 29.45)	16.92(12.75, 23.72)	20.88 $\pm$ 4.55
轻度子痫前期组	20	1.84 $\pm$ 0.45*	24.34 $\pm$ 5.79*	15.61(13.82, 25.94)	22.49(15.96, 28.12)	17.94 $\pm$ 8.04
对照组	20	1.86 $\pm$ 0.34*	24.08 $\pm$ 4.58*	10.96(9.86, 11.83)* Δ	16.61(14.07, 26.02)	21.61 $\pm$ 5.56
<i>F/Z</i>		3.84	3.61	15.20	2.52	1.95
<i>P</i>		0.03	0.03	0.00	0.28	0.15

注:与重度子痫前期组比较,* $P<0.05$;与轻度子痫前期组比较, $\Delta P<0.05$ 。



注：A为甜菜碱、B为脯氨酸、C为LPC18:0、D为L-异亮氨酸、E为苯丙氨酸；1为对照组、2为观察组。

图1 甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0、L-异亮氨酸、苯丙氨酸典型色谱图

2.5 血清甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0与子痫前期的病情程度相关性分析 血清甜菜碱与子痫前期的病情程度呈负相关($r = -0.317, P < 0.05$),血清

LPC18:0与子痫前期的病情程度呈正相关($r = 0.618, P < 0.05$),血清脯氨酸与子痫前期的病情程度呈弱相关($r = -0.288, P = 0.026$)。

2.6 血清甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0 诊断重度子痫前期患者的效能 应用重度子痫前期组和健康对照组血清甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0 3 种代谢物水平制作诊断重度子痫前期患者的 ROC 曲线,血清甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0 对于重度子痫前期患者有一定的诊断价值。3 种代谢物联合检测重度子痫前期患者的 AUC 为 0.907,具有较高的诊断价值。见表 5。

表 5 3 种代谢物单独及联合检测对重度子痫前期患者的诊断价值

血清指标	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC	95% CI
甜菜碱	70	75	0.725	0.563~0.887
脯氨酸	60	85	0.722	0.559~0.886
LPC18:0	90	65	0.805	0.665~0.945
联合检测	85	90	0.907	0.812~1.000

3 讨 论

子痫前期是发生在妊娠中晚期的疾病,但导致其发病的分子变化在妊娠早期就已经开始^[9]。由于重度子痫前期严重影响母婴安全及预后,因此,寻找诊断重度子痫前期的标志物,对早期诊断及干预具有重要意义。代谢组学研究的一般为小分子,而这些小分子恰恰能够真实反映人体各系统的生理、病理状态,为临床诊治提供有力依据^[10]。从本研究可以看出子痫前期患者与健康妊娠女性在血清代谢物上有区别。这些代谢物可能对子痫前期的病情诊断、评估、药物干预具有指导意义。

甜菜碱是甘氨酸的三甲基衍生物,可能通过减少机体缺氧-再灌注损伤^[11],产生氧化应激的抗氧化作用^[12],作为一种保护性因子参与胎盘缺血、缺氧,减少氧化应激等一系列反应的过程,从而达到抗氧化、降压作用^[13],故甜菜碱可能参与子痫前期的发生、发展。ODIBO 等^[14]通过 UPLC-MS 方法检测血清中酰肉碱和氨基酸明显升高。KOSTER 等^[15]利用超高效液相色谱串联质谱分析子痫前期和健康孕妇的血清样品发现血清牛磺酸及硬脂酰肉毒碱升高显著,而肉碱的合成需要甜菜碱的参与,故在子痫前期孕妇血清中,可出现甜菜碱的消耗过多而减低。本研究验证了重度子痫前期孕妇血清甜菜碱水平明显降低,说明甜菜碱在子痫前期的发病过程中起重要作用,可能作为一种保护性成分参与病情的发生发展,并且其检测重度子痫前期患者的 AUC 为 0.725,灵敏度为 70%,特异度为 75%,对重度子痫前期患者有一定的诊断效能。本研究显示重度子痫前期孕妇甜菜碱水平明显低于轻度子痫前期组与对照组,且相关性分析结果证实这种代谢物与子痫前期病情程度呈负相关,说明妊娠期

间这种代谢物水平降低可导致子痫前期发病风险增加,检测其水平可评估子痫前期的病情严重程度。另甜菜碱已被证明可以保护内脏,改善心血管系统,提高运动能力,是预防慢性病的重要营养素^[16]。有研究者通过对一组病态模型小鼠补充甜菜碱后,小鼠的多种促炎细胞因子的表达和血液高凝状态得到逆转^[17]。子痫前期疾病发生也与多种促炎因子表达有关,因此,补充甜菜碱有望作为治疗重度子痫前期的新靶点,治疗或延缓疾病子痫前期的进展,改善预后,这需要进行进一步的研究。

TANG 等^[18]的研究表明脯氨酸是一种容易释放的应激底物,通过调节缺氧诱导因子参与缺氧性疾病的发生、发展。子痫前期发病可能是一种胎盘缺氧性疾病^[19],脯氨酸可能作为一种应激保护活性作用的因子参与疾病的发生和发展^[20]。本研究中脯氨酸在重度子痫前期孕妇血清中水平明显降低,检测重度子痫前期患者的 AUC 为 0.722,灵敏度为 60%,特异度为 85%。但是目前关于脯氨酸的研究不多,对机体的应激保护及减少机体缺氧等作用具体机制不清,需要进一步研究证实。

LPC18:0 属于溶血性磷脂酰胆碱一种,近期的研究发现溶血性磷脂酰胆碱可促进平滑肌细胞的增殖,增加血管剪应,损伤内皮系统依赖的血管舒张功能,诱导血管内皮细胞的凋亡,损伤血管皮组织的连续性,促进血管炎性反应并影响了血小板聚集及血栓形成的过程^[21-23]。可诱导淋巴细胞和巨噬细胞迁移,增加促炎细胞因子的产生,诱导氧化应激,促进细胞凋亡,从而聚集炎症,促进子痫前期的发展^[24]。溶血磷脂酰胆碱作为最简单的水溶性甘油磷脂广泛参与脂质代谢,其异常说明了在子痫前期早期可能发生了脂代谢紊乱,参与疾病的发生、发展。本研究结果显示轻度子痫前期组孕妇血清 LPC18:0 水平明显高于对照组,并且 LPC18:0 有一定的诊断效能,其检测重度子痫前期患者的 AUC 为 0.805,灵敏度为 90%,特异度为 65%。相关性分析显示血清 LPC18:0 水平与子痫前期的病情程度呈正相关,即 LPC18:0 水平越高,孕妇发生子痫前期风险越大,病情越重,故临床可根据其水平对病情进行预测,从而在疾病早期进行干预。根据以上研究,研究者有望在临床治疗子痫前期患者时通过降低这些溶血性磷脂水平,从而干预相关的脂质代谢通路,改善患者的症状。

血清甜菜碱、LPC18:0 与子痫前期的病情程度具有相关性,测定其水平变化能判断子痫前期病情,在疾病早期进行干预及指导后续治疗。血清甜菜碱、脯氨酸、LPC18:0 检测重度子痫前期患者的 AUC 分别

为 0.725、0.722 和 0.805,对于重度子痫前期患者具有一定的诊断价值,3 种代谢物联合检测重度子痫前期患者的 AUC 为 0.907,具有较高的诊断价值,可更好地应用于临床;本研究未验证出 L-异亮氨酸及苯丙氨酸在子痫前期代谢中的特异性,考虑样本量小,还需进一步扩大样本量及检测范围。随着研究进展,联合不同代谢物及其他指标诊断子痫前期,可更好地发挥其临床应用价值。

参考文献

- [1] MURTHI P, PINAR A A, DIMITRIADIS E, et al. Inflammasomes-a molecular link for altered immunoregulation and inflammation mediated vascular dysfunction in preeclampsia[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4):1406.
- [2] MAYRINK J, COSTA M L, CECATTI J G. Preeclampsia in 2018: revisiting concepts, physiopathology, and prediction[J]. *Sci World J*, 2018, 20(18):6268276.
- [3] HAGAR H, MEDANY AE, SALAM R, et al. Betaine supplementation mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2015, 67(2):133-141.
- [4] TAKAGI H. Proline as a stress protectant in yeast: physiological functions, metabolic regulations, and biotechnological applications[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 81(2):211-223.
- [5] CHEN T T, HE P, TAN Y, et al. Biomarker identification and pathway analysis of preeclampsia based on serum metabolomics[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 485(1):119-125.
- [6] 谭兵, 马亚楠, 张磊, 等. 子痫前期孕妇血清代谢组学分析[J]. *国际妇产科学杂志*, 2019, 46(3):316-320.
- [7] 陈洪. 子痫前期血清代谢组学研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2015.
- [8] 杨孜, 张为远. 妊娠期高血压疾病诊治指南(2015)[J]. *中华围产医学杂志*, 2016, 19(3):161-169.
- [9] 李冠琳, 杨慧霞. 子痫前期的发病机制及亚型分类[J]. *中华围产医学杂志*, 2017, 20(12):899-903.
- [10] 孙丽洲, 姜子燕. 代谢组学在子痫前期预测及诊断中的应用[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2018, 34(9):970-973.
- [11] 谢竹青, 马连龙, 王辉, 等. 甜菜碱对大鼠肝脏缺血-再灌注损伤的作用[J]. *中国新药与临床杂志*, 2020, 39(1):48-52.
- [12] ALIREZAEI M, KHOSHDEL Z, DEZFOULIAN O, et al. Beneficial antioxidant properties of betaine against oxidative stress mediated by levodopa/benserazide in the brain of rats[J]. *J Physiol Sci*, 2015, 65(3):243-252.
- [13] HAGARR H, MEDANY A E, SALAM R, et al. Betaine supplementation mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity

by abrogation of oxidative/nitrosative stress and suppression of inflammation and apoptosis in rats[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2015, 67(2):133-141.

- [14] ODIBO A O, GOETZINGER K R, ODIBO L, et al. First-trimester prediction of preeclampsia using metabolomic biomarkers: a discovery phase study[J]. *Prenat Diagn*, 2011, 31(10):990-994.
- [15] KOSTER M P, VREEKEN R J, HARMS A C, et al. First-trimester serum acylcarnitine levels to predict preeclampsia: a metabolomics approach[J]. *Dis Markers*, 2015, 20(15):857108.
- [16] CRAIG S A. Betaine in human nutrition[J]. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80(3):539-549.
- [17] MACLEAN K N, JIANG H, GREINER L S, et al. Long-term betaine therapy in a murine model of cystathionine beta-synthase deficient homocystinuria: decreased efficacy over time reveals a significant threshold effect between elevated homocysteine and thrombotic risk[J]. *Mol Genet Metab*, 2012, 105(3):395-403.
- [18] TANG L, ZENG J, GENG P, et al. Global metabolic profiling identifies a pivotal role of proline and hydroxyproline metabolism in supporting hypoxic response in hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(2):474-485.
- [19] KORKES H A, DE OLIVERRA L, SASS N, et al. Relationship between hypoxia and downstream pathogenic pathways in preeclampsia [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2017, 36(2):145-150.
- [20] MUKAI Y, KAMEI Y, LIU X, et al. *Saccharomyces cerevisiae* Proline metabolism regulates replicative lifespan in the yeast[J]. *Microb Cell*, 2019, 6(10):482-490.
- [21] NIIOKA T, OHATA H, MOMOSE K, et al. Lysophosphatidic acid induces shear stress-dependent contraction in mouse aortic strip in situ[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2013, 62(6):530-538.
- [22] CHANG M C, LEE J J, CHEN Y, et al. Lysophosphatidylcholine induces cytotoxicity/apoptosis and IL-8 production of human endothelial cells: related mechanisms [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(63):106177-106189.
- [23] BAO L, QI J, WANG Y W, et al. The atherogenic actions of LPC on vascular smooth muscle cells and its LPA receptor mediated mechanism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(3):1911-1918.
- [24] LIU P, ZHU W, CHEN C, et al. The mechanisms of lysophosphatidylcholine in the development of diseases [J]. *Life Sci*, 2020, 247(1):117443.