

• 临床研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.05.008
网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250304.1152.003\(2025-03-06\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.r.20250304.1152.003(2025-03-06))

基于液相色谱-质谱法的子痫前期患者血清、胎盘和胎儿血清代谢生物标志物的鉴定^{*}

潘怡霞¹, 刘睿², 卫婵³, 马强⁴, 王慰敏^{1△}

(1. 西安交通大学第一附属医院妇产科, 西安 710061; 2. 浙江大学医学院附属第四医院生殖医学研究中心, 浙江义乌 322000; 3. 陕西省西安市长安区妇幼保健计划生育服务中心, 西安 710000; 4. 西安交通大学第一附属医院周围血管科, 西安 710061)

[摘要] **目的** 通过非靶向代谢组学技术明确子痫前期(PE)患者血清、胎盘的代谢表型改变及是否影响子代血清,筛选和挖掘与子痫前期(PE)相关的潜在预测生物标志物,为临床诊断及病情监测提供参考依据。**方法** 基于液相色谱-质谱(LC-MS)非靶向代谢组学方法,对 6 例 PE 患者(PE 组)及 6 例正常妊娠晚期孕妇(对照组)的血清、胎盘及胎儿血清标本分别进行代谢组学分析。结合多元及单变量统计方法筛查各标本中的内源性差异代谢物,利用 MetaboAnalyst 软件对差异代谢物涉及的代谢通路进行富集分析。此外,基于二元 logistic 回归模型筛选可预测 PE 的生物标志物。**结果** 与对照组相比,PE 组患者的血清、胎盘及胎儿血清标本代谢谱存在明显差异。PE 患者血清中主要伴有 α -亚麻酸代谢、牛磺酸代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等代谢通路异常,在胎盘中呈现出亚油酸代谢、牛磺酸代谢、 α -亚麻酸代谢和不饱和脂肪酸生物合成等代谢通路异常,在 PE 患者胎儿体内产生谷氨酰胺、谷氨酸代谢、 α -亚麻酸代谢和丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等多不饱和脂肪酸和氨基酸代谢通路异常。应用二元 logistic 回归模型绘制差异代谢物的受试者工作特征(ROC)曲线,从中筛选到 4 个曲线下面积(AUC) >0.9 的血清代谢物,这些代谢物主要为多不饱和脂肪酸类代谢物。同时 3 种标本中共有明显差异代谢物 α -亚麻酸的 AUC 为 0.806,灵敏度为 66.67%,特异度为 100.00%,具有较高的诊断价值。**结论** PE 患者和正常妊娠晚期孕妇之间的血清、胎盘及胎儿血清标本代谢谱存在明显差异并且影响了子代的代谢表型,这为深入了解 PE 的发病机制提供了依据。

[关键词] 子痫前期;代谢生物标志物;代谢表型;胎盘;胎儿血清

[中图法分类号] R714.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2025)05-1092-09

Identification of serum, placental and fetal serum metabolite biomarkers for preeclampsia based on LC-MS^{*}

PAN Yixia¹, LIU Rui², WEI Chan³, MA Qiang⁴, WANG Weimin^{1△}

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China; 2. Reproductive Medicine Research Center, the Fourth Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Yiwu, Zhejiang 322000, China; 3. Maternal and Child Health Care and Family Planning Service Center in Chang'an District of Xi'an, Xi'an, Shaanxi 710000, China; 4. Department of Vascular Surgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

[Abstract] **Objective** To clarify the metabolic phenotypic changes in the serum and placenta of pre-eclampsia (PE) patients and their potential impact on fetal serum, and to identify and explore potential predictive biomarkers related to PE by using non-targeted metabolomics technology, thereby providing a reference for clinical diagnosis and disease monitoring. **Methods** Based on non-targeted metabolomics using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), metabolomic analyses were performed on serum, placenta and umbilical cord blood samples from 6 PE patients (PE group) and 6 healthy pregnant women in the late trimester (control group). Differential endogenous metabolites in each sample were screened using multivariate and univariate statistical methods. Metabolic pathways involved in the differential metabolites were enriched using MetaboAnalyst software. Additionally, potential biomarkers for predicting PE were identified based on binary

^{*} 基金项目:陕西省重点研发计划一般项目(2022SF-055);陕西省西安市科技计划项目一般项目(21YXYJ0108);西安交通大学第一附属医院医院科研发展基金自由探索与创新项目(2021ZYTS-16)。 [△] 通信作者, E-mail: wangweimin@xjtu. edu. cn。

logistic regression models. **Results** Compared with the control group, significant differences in the metabolic profiles of serum, placenta, and fetal serum were observed in the PE group. In the serum of PE patients, major metabolic abnormalities included α -linolenic acid metabolism, taurine metabolism, glycine, serine and threonine metabolism. In the placenta, abnormalities in linoleic acid metabolism, taurine metabolism, α -linolenic acid metabolism, and unsaturated fatty acid biosynthesis were detected. In the fetus of PE patients, metabolic abnormalities were found in glutamine and glutamate metabolism, α -linolenic acid metabolism, and alanine, aspartate, and glutamate metabolism, involving polyunsaturated fatty acids and amino acids. The receiver operating characteristic (ROC) curves of differential metabolites were plotted using binary logistic regression models, and 4 serum metabolites with an area under the curve (AUC) >0.9 were identified, mainly polyunsaturated fatty acid metabolites. The AUC of α -linolenic acid, a common differential metabolite in all three samples, was 0.806, with a sensitivity of 66.67% and specificity of 100.00%, indicating high diagnostic value. **Conclusion** The serum, placenta, and fetal serum metabolic profiles of PE patients and healthy pregnant women in the late trimester are significantly different and affect the metabolic phenotypes of offspring, providing insights into the pathogenesis of PE.

[Key words] preeclampsia; metabolic biomarkers; metabolic phenotypes; placenta; fetal serum

子痫前期(preeclampsia, PE)为孕产妇常见的并发症,发病率为 2%~8%,表现为高血压、蛋白尿和其他全身系统或器官的功能紊乱,严重影响母婴健康。PE 每年可致约 70 000 例孕产妇和 500 000 例围产儿死亡^[1]。临床实践表明,PE 的早期诊断和识别可以有效加强患者的孕期管理与病情监测,尽早预防和及时治疗能够尽可能降低母婴风险,但因 PE 的具体发病机制尚不明确,缺少灵敏度及特异度较高的诊断与监测方法。机体代谢的变化通常发生在疾病临床症状出现之前,通过检测代谢物质变化来预测 PE 的发生和发展是目前的研究趋势之一。代谢组学主要是对体液、组织、细胞等生物体系中相对分子质量 $<1\,000\times10^3$ 的小分子代谢物进行分析,反映外界刺激或遗传修饰的生物体系代谢应答变化。这些小分子能够客观反映生物体最终的生理、病理代谢状态^[2]。因此,通过代谢组学的方法寻找 PE 相关的生物标志物不仅有利于揭示其病理机制,还可为 PE 的早期诊断和预后提供重要的物质基础。本研究拟通过非靶向代谢组学技术探讨该病发病机制,明确 PE 患者代谢表型改变及是否影响子代,筛选和挖掘与 PE 相关的生物标志物,为临床诊断及病情监测提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2023 年 3—6 月在西安交通大学第一附属医院产科住院分娩的 6 例单胎妊娠 PE 孕妇为 PE 组。PE 的诊断参照《妇产科学(第 9 版)》中有关 PE 的诊断标准。排除标准:妊娠早期和中期(0~28 周)的孕妇;糖尿病、贫血、血脂异常、吸烟及酗酒的孕妇;近在 3 个月内使用胰岛素增敏剂或中草药;自身免疫性疾病史、恶性肿瘤病史和胃肠道手术史。另选择同期 6 例单胎妊娠正常妊娠晚期孕妇为对照组。两组孕妇均采取剖宫产终止妊娠,对照组剖宫产指征为瘢痕子宫、胎位异常或头盆不称等。本研究经西安交通大学第一附属医院医学伦理委员会批准(审批号:XJ-TU1AF2021LSK-421),受试者均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 标本采集

所有受试者禁食过夜(>8 h)后,于手术当日早晨收集外周血 5 mL 置于不含抗凝剂的离心管中,4℃静置 1 h 进行凝固分层,低温离心(4℃,12 000 r/min,10 min),取上清液转移至干净的离心管后分装置于-80℃冰箱保存。剖宫产术中采集脐动脉血 2 mL,同前处理后分装置于-80℃冰箱保存。术中于胎盘母体面中央部位取 1 cm³ 组织,用生理盐水漂洗干净擦干后分装于冻存管中,后立即用液氮速冻处理 15 min,转移置于-80℃冰箱保存。

1.2.2 标本预处理

所有试剂均为质谱级,购自美国 Thermo Fisher 公司。标本于冰上缓慢解冻后,取 100 μ L 置于离心管中,加入 300 μ L 甲醇沉淀蛋白,涡旋 30 s 混匀,-40℃静置 1 h,涡旋 30 s,4℃静置 0.5 h 后置于 4℃离心机中 12 000 r/min 离心 15 min。取全部上清液置于离心管中,于-40℃静置 1 h 后于 4℃离心机中 12 000 r/min 离心 15 min;移取 200 μ L 上清液,加入内标(0.14 mg/mL 二氯苯丙氨酸)5 μ L,转入进样小瓶中制备成待测标本。

1.2.3 高效液相色谱-质谱(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)分析条件

高效液相色谱为美国 Waters 公司 ACQUITY UPLC 系统,色谱柱为 HSS T3 (2.1 mm $\times$ 100.0 mm,1.8 μ m)。高效液相色谱条件:流动相 A 为超纯水(0.05%甲酸溶液),流动性 B 为乙腈,进样量为 15 μ L,柱温 40℃,自动进样器温度维持在 4℃。以 0.3 mL/min 的流速进行总运行时间为 16 min 梯度洗脱:起始梯度为 5% 流动相 B 并维持 1 min,然后在 11

min 内流动相 B 线性增加至 95%并维持 1.5 min,流动相 B 在 0.1 min 线性降回 5%,平衡色谱柱 2.4 min。

质谱为美国 Thermo 公司的 Q Exactive 型。分别采用正、负离子模式采集从色谱柱上洗脱下来的小分子。采用电喷雾离子源,同时在正、负离子模式扫描检测,扫描质量为 70~1 500 m/z,分辨率为 140 000;电喷雾电压在正、负离子模式下分别为 3.0、3.2 kV;鞘气流速为 45 arb;辅助气流速为 15 arb;尾气流速为 1 arb;S-Lens 射频电压强度为 30;离子源温度为 300 ℃。

为了监测分析结果的稳定性和重复性,由待测标本等量混合制成质控标本,每组标本原始数据(12 份标本)同 3 份质控标本一起检测。

1.2.4 数据处理

将质谱检测得到的原始文件导入 CompoundDiscoverer3.1 软件中进行谱图处理及数据库搜索,得到代谢物的定性定量结果,然后对数据进行质控,保证数据结果的准确度、可靠性。随后对代谢物进行多元统计分析,包括主成分分析(principal component analysis,PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares discrimination analysis,OPLS-DA),揭示两组间不同标本代谢物的差异。采用 R2Y 和 Q2 两个参数对构建 OPLS-DA 模型的可靠性进行评估,R2Y 为 0~1,越接近 1 说明模型对因变量的拟合效果越好。Q2 越接近 1,预测能力越强。通常认为 Q2>0.5 为模型可靠。根据 OPLS-DA 模型中的变量投影重要性值(variable importance in

projection,VIP)对各代谢物进行初筛,VIP≥1 表示相应的代谢物有统计学意义。将同时满足 VIP≥1 和两组间比较差异有统计学意义的代谢物标记为潜在差异代谢物。对差异代谢物的定量值计算欧式距离矩阵,以完全连锁方法对差异代谢物进行聚类分析。通过将统计分析得到的差异代谢物与公开的数据库 HMDB(<http://www.hmdb.ca>)和 KEGG(<http://www.genome.jp/kegg>)进行匹配来鉴定标本中的差异代谢物,将所有正、负离子模式下鉴定的差异代谢物导入 MetaboAnalyst 软件(<http://www.metaboanalyst.ca>)进行代谢通路分析。应用二元 logistic 回归模型绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线分析,评价代谢物对 PE 的诊断价值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件对数据进行分析。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。计数资料采用例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。两组孕周与差异代谢物相关性采用多元回归分析法。绘制 ROC 曲线计算曲线下面积(area under curve,AUC),用以评估代谢物的诊断效能。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组孕妇临床资料的比较

PE 组患者年龄、初产情况及 BMI 与对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。PE 组分娩孕周及新生儿体重小于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 PE 组与对照组患者一般资料的比较

组别	<i>n</i>	年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	初产妇[<i>n</i> (%)]	BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m ²)	分娩孕周($\bar{x} \pm s$,周)	新生儿体重($\bar{x} \pm s$,g)
对照组	6	30.8±4.6	5(83.3)	27.6±2.7	39.9±0.6	3 420.0±342.6
PE 组	6	29.7±2.5	6(100.0)	27.9±2.9	36.3±2.2	2 488.3±750.0
<i>t</i> / χ^2		0.548	0.667	−0.056	3.834	−2.768
<i>P</i>		0.596	0.505	0.957	0.003	0.028

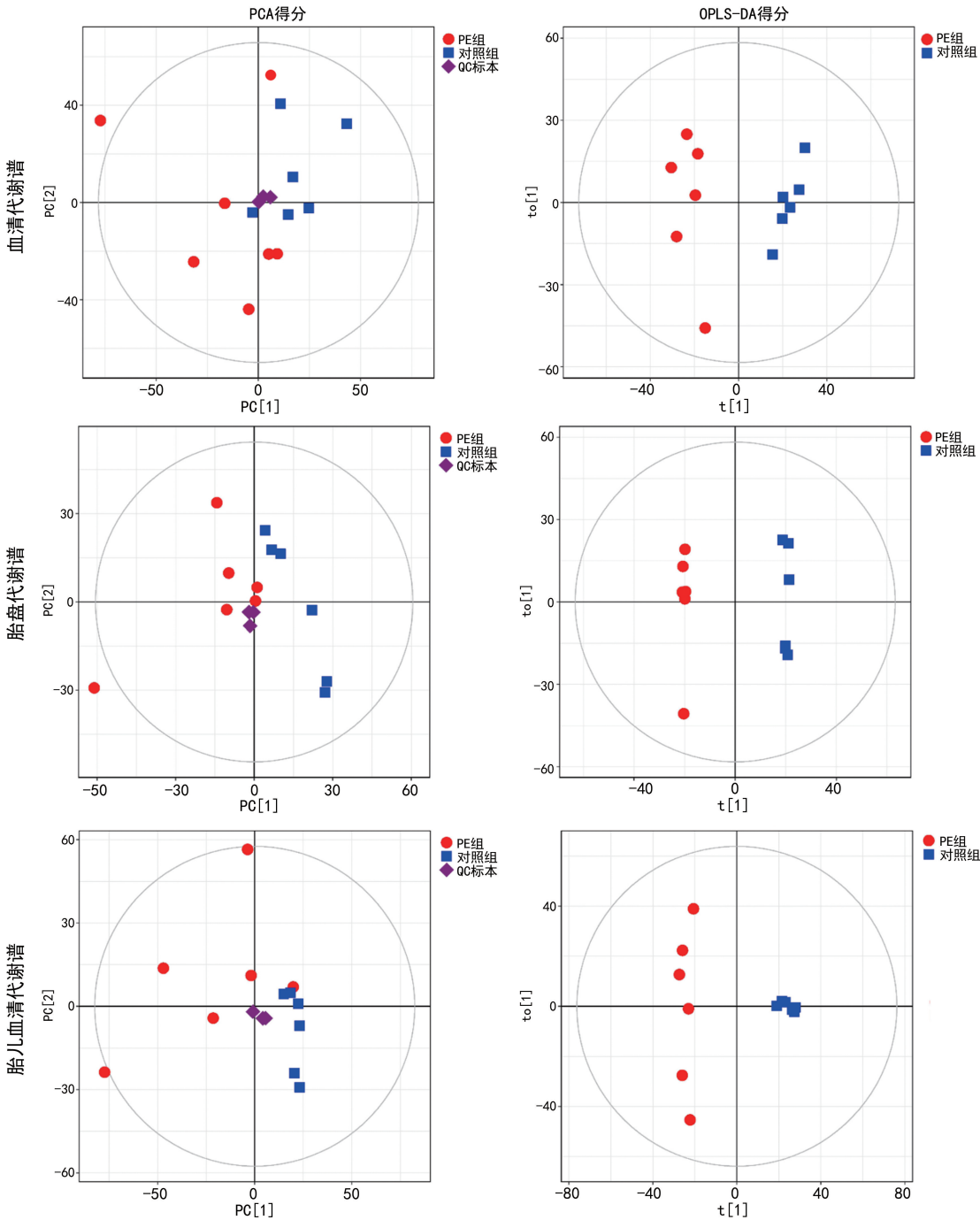
2.2 差异代谢物的筛选及鉴定

分别采用非监督的 PCA 和有监督的 OPLS-DA 对两组的血清、胎盘及胎儿血清标本进行模式识别分析,观察其代谢变化的趋势和两组之间的差异。PCA 图中质控标本在正离子(+)或负离子(−)模式下均高度密集,说明分析过程处于稳定状态。OPLS-DA 分析结果显示,血清 R2Y=0.951,Q2=0.502,胎盘 R2Y=0.999,Q2=0.556,胎儿血清 R2Y=0.986,Q2=0.548,说明模型可靠。OPLS-DA 得分图的结果显示,PE 患者血清、胎盘及胎儿血清标本在(+)和(−)模式下具有明显的分离,见图 1。说明 PE 组患者的血清、胎盘及胎儿血清标本与对照组各标本在总

体水平上存在明显的代谢差异。

使用多元变量统计分析方法对数据进行分析,根据 OPLS-DA 模型中的 VIP 值对各代谢物变量进行初筛,同时满足 VIP≥1 和 $P<0.05$ 的为潜在的差异代谢物。结果显示,在血清中一共鉴定了 70 个差异代谢物,其中 19 个差异代谢物在 PE 患者中上升,51 个差异代谢物降低;在胎盘中一共鉴定了 103 个差异代谢物,其中 59 个差异代谢物在 PE 患者中上升,44 个差异代谢物降低;在胎儿血清中一共鉴定了 77 个差异代谢物,其中 43 个差异代谢物在 PE 患者中上升,34 个差异代谢物降低,见表 2。为了更加直观地表示差异代谢物在 PE 组和对照组各标本中的变化水

平,采用通过聚类分析方法分析。在血清标本的差异代谢物中, α -亚麻酸和 13S-羟基十八碳二烯酸在 PE 患者中上升,十二烷酸(月桂酸)在 PE 患者中降低。



PCA 得分图中横坐标 PC[1]代表主成分 1,纵坐标 PC[2]代表主成分 2,圆形代表 95%CI;OPLS-DA 得分图中横坐标 t[1]代表主成分 1,to [1]代表主成分 2,圆形代表 95%CI。

图 1 3 种标本代谢谱的 PCA 和 OPLS-DA 得分图

标本	正离子模式		负离子模式		合计
	FC>1	FC<1	FC>1	FC<1	
血清	17	33	2	18	70
胎盘	20	26	39	18	103
胎儿血清	17	29	26	5	77

FC:差异倍数,FC>1 表示代谢物在 PE 患者组中升高,FC<1 表示代谢物在 PE 组中降低。

在以上各标本差异代谢物中以 FC 值 ≥ 2.0 或 ≤ 0.5 为标准,筛选 PE 患者各组标本中明显上调或降低的差异代谢物。考虑 PE 组与对照组孕周有差异,应用多元回归分析,剔除结果中 $P<0.05$ 的代谢物,最终显示 PE 组患者血清中有 10 个代谢物水平明显升高,5 个代谢物水平明显降低,见表 3。PE 组患者胎盘中有 12 个代谢物水平明显升高,6 个代谢物水平明显降低,见表 4。PE 组患者胎儿血清中有 10 个代

谢物水平明显升高,3 个代谢物水平明显降低,见表 5。3 种标本的差异代谢物中,在 PE 患者中均上升的

是 α -亚麻酸。

表 3 PE 组患者血清标本中的差异代谢物

序号	保留时间 (min)	代谢物	分子式	VIP	<i>P</i>	FC	趋势	HMDB ID	离子模式
1	0.82	二氢胸腺嘧啶	C ₅ H ₈ N ₂ O ₂	1.97	<0.05	2.69	↑	HMDB0000079	+
2	9.04	亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1.81	<0.05	2.61	↑	HMDB0001388	+
3	1.59	N1-甲基-2-吡啶酮-5-羟酰胺	C ₇ H ₈ N ₂ O ₂	1.79	<0.05	2.47	↑	HMDB0004193	+
4	3.40	惕格酰肉碱	C ₁₂ H ₂₁ NO ₄	1.90	<0.05	2.41	↑	HMDB0002366	+
5	2.79	泛酸	C ₉ H ₁₇ NO ₅	1.78	<0.05	2.39	↑	HMDB0000210	+
6	0.83	N-乙酰鸟氨酸	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃	1.87	<0.05	2.30	↑	HMDB0003357	+
7	11.09	13S-羟基十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	1.56	<0.05	2.24	↑	HMDB0004667	+
8	0.88	N-乙酰苏氨酸	C ₆ H ₁₁ NO ₄	1.47	<0.05	2.16	↑	HMDB0062557	+
9	12.26	α -亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1.32	<0.05	2.16	↑	HMDB0001388	+
10	3.42	γ -谷氨酰苯丙氨酸	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅	1.75	<0.05	2.05	↑	HMDB0000594	+
11	10.29	13-L-氢过氧亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	2.07	<0.01	0.48	↓	HMDB0003871	—
12	1.41	L-吡咯赖氨酸	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₄ S ₂	1.50	<0.05	0.47	↓	HMDB0000192	—
13	5.63	L-丙氨酸	C ₁₂ H ₂₁ N ₃ O ₃	2.23	<0.001	0.46	↓	METPA1236	+
14	11.57	7-酮胆固醇	C ₂₇ H ₄₄ O ₂	1.52	<0.05	0.36	↓	HMDB0000501	+
15	7.58	十二烷酸(月桂酸)	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	1.55	<0.05	0.34	↓	HMDB0000638	—

↓:与对照组相比,PE 组中该代谢物降低;↑:与对照组相比,PE 组中该代谢物升高。

表 4 PE 组患者胎盘标本中的差异代谢物

序号	保留时间(min)	代谢物	分子式	VIP	<i>P</i>	FC	趋势	HMDB ID	离子模式
1	1.31	甘油磷酸胆碱	C ₈ H ₂₀ NO ₆ P	1.93	<0.05	3.37	↑	HMDB0000086	+
2	1.58	N1-甲基-2-吡啶酮-5-羧酰胺	C ₇ H ₈ N ₂ O ₂	1.71	<0.05	3.02	↑	HMDB0004193	+
3	0.81	N-甲酰-L-甲硫氨酸	C ₆ H ₁₁ NO ₃ S	1.69	<0.01	2.90	↑	HMDB0001015	—
4	8.93	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1.70	<0.05	2.73	↑	HMDB0000673	—
5	8.59	γ -亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1.47	<0.05	2.56	↑	HMDB0003073	—
6	8.14	牛磺鹅去氧胆酸	C ₂₆ H ₄₅ NO ₆ S	1.76	<0.05	2.56	↑	HMDB0000951	—
7	9.91	α -二萜花酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	1.72	<0.05	2.49	↑	HMDB0004670	—
8	0.81	N-乙酰-组织氨基酸	C ₈ H ₁₁ N ₃ O ₃	1.75	<0.01	2.42	↑	HMDB0032055	—
9	9.40	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1.50	<0.05	2.11	↑	HMDB0000207	—
10	12.26	α -亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	2.30	<0.001	2.07	↑	HMDB0001388	+
11	5.81	2-苯乙酰胺	C ₈ H ₉ NO	1.84	<0.05	2.06	↑	HMDB0010715	—
12	0.97	丙酮酸	C ₃ H ₄ O ₃	1.68	<0.05	2.06	↑	HMDB0000243	—
13	0.90	鞣花酸	C ₁₄ H ₆ O ₈	1.93	<0.05	0.48	↓	HMDB0002899	—
14	0.83	N-乙酰葡萄糖胺-6-磷酸	C ₈ H ₁₆ NO ₉ P	1.63	<0.05	0.46	↓	HMDB0002817	—
15	6.63	8-羟基鸟嘌呤	C ₅ H ₅ N ₅ O ₂	1.61	<0.01	0.44	↓	HMDB0002032	—
16	0.98	α -D-葡萄糖-1,6-二磷酸	C ₆ H ₁₄ O ₁₂ P ₂	1.97	<0.05	0.38	↓	HMDB0003514	—
17	0.98	乙酰磷酸	C ₂ H ₅ O ₅ P	1.98	<0.05	0.36	↓	HMDB0001494	—
18	0.80	O-磷酸乙醇胺	C ₂ H ₈ NO ₄ P	1.71	<0.05	0.34	↓	HMDB0000224	+

↓:与对照组相比,PE 组中降低;↑:与对照组相比,PE 组中升高。

表 5 PE 组患者胎儿血清标本中的差异代谢物

序号	保留时间(min)	代谢物	分子式	VIP	<i>P</i>	FC	趋势	HMDB ID	离子模式
1	5.05	2-辛炔酸甲酯	C ₉ H ₁₄ O ₂	2.08	<0.05	4.77	↑	HMDB0031302	—
2	0.81	氧化三甲胺	C ₃ H ₉ NO	1.96	<0.05	4.31	↑	HMDB0000925	+
3	13.96	9-氧代十八烷酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₃	1.87	<0.05	3.31	↑	HMDB0030979	+
4	13.96	9E,11E-十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1.91	<0.05	3.28	↑	HMDB0005047	+
5	0.82	D-核糖	C ₅ H ₁₀ O ₅	1.97	<0.05	2.86	↑	HMDB0000283	—
6	13.56	吡嗪酰胺	C ₅ H ₅ N ₃ O	1.50	<0.05	2.75	↑	HMDB0014483	+
7	6.86	牛磺熊去氧胆酸	C ₂₆ H ₄₅ NO ₆ S	1.94	<0.05	2.42	↑	HMDB0000874	—
8	13.96	α-亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	1.85	<0.05	2.40	↑	HMDB0001388	+
9	4.94	香草乳酸	C ₁₀ H ₁₂ O ₅	2.08	<0.05	2.35	↑	HMDB0000913	—
10	13.46	姜酚	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	1.69	<0.05	2.02	↑	HMDB0005783	—
11	6.63	2-甲氧基雌酮	C ₁₉ H ₂₄ O ₃	1.40	<0.05	0.50	↓	HMDB0000010	+
12	2.13	2-哌啶酮	C ₅ H ₉ NO	1.55	<0.05	0.23	↓	HMDB0011749	+
13	3.23	茶碱	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	1.95	<0.05	0.19	↓	HMDB0001889	—

↓:与对照组相比,PE 组中该代谢物降低;↑:与对照组相比,PE 组中该代谢物升高。

2.3 差异代谢物代谢通路分析

应用开源的 MetaboAnalyst 软件对获得的 3 种标本中差异代谢物所涉及的关键调控通路及网络变化进行综合分析(包括富集分析和拓扑分析),根据 *P*

值和影响力值综合分析,筛选关键代谢通路。PE 患者在血清、胎盘及胎儿血清标本差异代谢物涉及的代谢通路中,发生共同改变的是 α-亚麻酸代谢通路。见表 6~8。

表 6 血清中差异代谢物的代谢通路

通路名称	Total	Hits	Raw <i>P</i>	−ln(<i>P</i>)	Holm <i>P</i>	FDR	Impact
α-亚麻酸代谢	13	1	0.301 3	1.199 7	1	1	0.333 33
牛磺酸与亚牛磺酸代谢	8	2	0.018 10	4.011 7	1	1	0.285 71
甘氨酸、丝氨酸与苏氨酸代谢	33	1	0.600 0	0.510 9	1	1	0.217 07
氨酰-tRNA 生物合成	48	2	0.376 4	0.977 1	1	1	0.166 67
色氨酸代谢	41	2	0.305 9	1.184 4	1	1	0.158 29
丙氨酸、天冬氨酸与谷氨酸代谢	28	2	0.174 3	1.746 7	1	1	0.113 78

Total:通路中化合物的总数;Hits:用户上传的数据中实际匹配的数量;Raw *P*:原始 *P* 值;−ln(*P*):负对数 *P* 值;Holm *P*:Holm 校正 *P* 值;FDR:错误发现率;Impact:影响力值,从通路拓扑分析计算出。

表 7 胎盘中差异代谢物的代谢通路

通路名称	Total	Hits	Raw <i>P</i>	−ln(<i>P</i>)	Holm <i>P</i>	FDR	Impact
亚油酸代谢	5	1	0.211 910 0	1.551 6	1	1	1.000 00
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成	4	1	0.173 410 0	1.752 1	1	1	0.500 00
牛磺酸与亚牛磺酸代谢	8	1	0.317 10 0	1.148 5	1	1	0.428 57
苯丙氨酸代谢	10	1	0.379 40 0	0.969 2	1	1	0.357 14
α-亚麻酸代谢	13	1	0.462 490 0	0.771 1	1	1	0.333 33
不饱和脂肪酸生物合成	36	6	0.005 232 6	5.252 8	0.439 54	0.439 54	0

Total:通路中化合物的总数;Hits:用户上传的数据中实际匹配的数量。Raw *P*:原始 *P* 值;−ln(*P*):负对数 *P* 值;Holm *P*:Holm 校正 *P* 值;FDR:错误发现率;Impact:影响力值,从通路拓扑分析计算出。

2.4 差异代谢物的预测价值

为了进一步预测上述血清差异代谢物的潜在诊断效能,根据每个差异代谢物在两组标本中的相对含

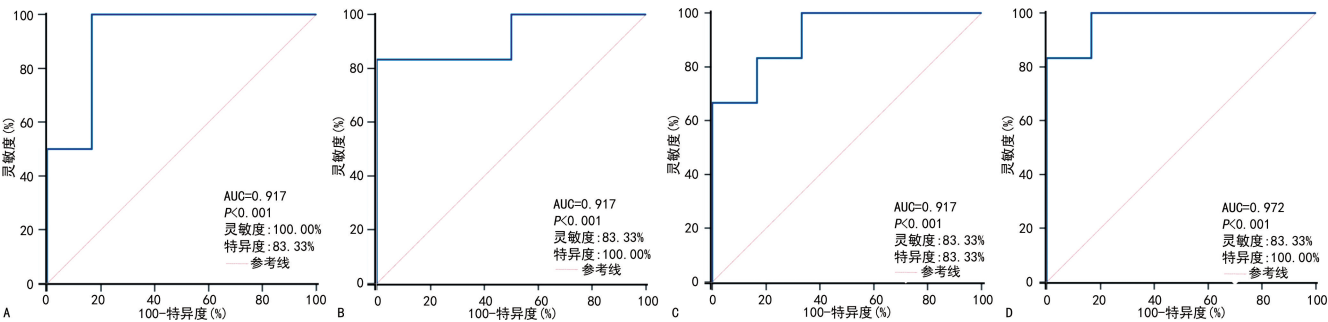
量绘制了 ROC 曲线,最后筛选到 4 个 AUC>0.9 的差异代谢物,分别是 α-亚麻酸、γ-谷氨酰苯丙氨酸、13S-羟基十八碳二烯酸和 13-L-氢过氧亚油酸,见图

2. 血清、胎盘及胎儿血清的共同差异代谢物 α -亚麻酸的 AUC 为 0.806,灵敏度为 66.67%,特异度为 100.00%,见图 3。

表 8 胎儿血清中差异代谢物的代谢通路

通路名称	Total	Hits	Raw P	−ln(P)	Holm P	FDR	Impact
D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢	6	2	0.013 014	4.34 18	1	0.980 61	0.500 00
苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成	4	1	0.118 340	2.134 2	1	1	0.500 00
α -亚麻酸代谢	13	1	0.336 720	1.088 5	1	1	0.333 33
丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢	28	1	0.588 810	0.529 7	1	1	0.197 12
精氨酸和脯氨酸代谢	38	2	0.330 610	1.106 8	1	1	0.146 99
缬氨酸、亮氨酸与异亮氨酸降解	40	2	0.353 630	1.039 5	1	1	0

Total:通路中化合物的总数;Hits:用户上传的数据中实际匹配的数量。Raw P:原始 P 值;−ln(P):负对数 P 值;Holm P:Holm 校正 P 值;FDR:错误发现率;Impact:影响力值,从通路拓扑分析计算出。



A: α -亚麻酸的 ROC 曲线;B: γ -谷氨酰苯丙氨酸的 ROC 曲线;C 为 13S-羟基十八碳二烯酸的 ROC 曲线;D 为 13-L-氢过氧亚油酸的 ROC 曲线。

图 2 应用二元 logistic 回归模型筛选的 4 个差异代谢物的 ROC 曲线

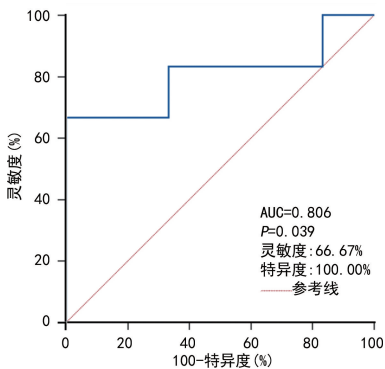


图 3 应用二元 logistic 回归模型绘制共同差异代谢物 α -亚麻酸的 ROC 曲线

3 讨 论

妊娠期高血压疾病是一组妊娠与血压升高并存的疾病,对母婴健康有较大影响,是孕产妇和围产儿死亡率升高的主要原因之一。尤其是重度 PE 患者,母体并发症发生率高,胎儿宫内发育迟缓、早产的发生率也明显增加,新生儿死亡率也随之升高,严重威胁母婴生命健康。目前 PE 病因尚不明确,缺乏有效的早期诊断、积极预防的措施,只有明确其发病机制,寻找切实有效的预测标志物,才能做到早诊断、早治疗、早预防,实现降低孕产妇和围产儿发病率和死亡率的目标。代谢组学在 PE 领域中的应用仍处于早期探索阶段^[3],对 PE 患者母体、胎儿及其附属物进行全

面的代谢组学分析研究,对阐明 PE 的发病机制和指导临床诊断具有重要的指导意义。

本研究发现 PE 患者血清、胎盘及胎儿血清中均伴有明显的 α -亚麻酸改变及代谢紊乱。 α -亚麻酸是一种 ω -3 必需脂肪酸,是构成人体脑细胞和组织细胞的重要成分。部分研究表明, α -亚麻酸具有降血压、降血糖、降血脂、抗血小板聚集、抑制炎症反应、防止血栓形成及改善血管内皮功能等多种功效^[4-6]。LI 等^[7]认为, α -亚麻酸补充剂通过减轻超氧化物歧化酶过度乙酰化和自噬损伤以抑制血管氧化应激,从而改善内皮功能障碍和高血压。 α -亚麻酸可通过 Δ 6 去饱和酶和 Δ 5 去饱和酶代谢为二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid,DHA),但已观察到大量的膳食亚油酸可以抑制 α -亚麻酸向 DHA 的转变。有证据表明,添加硬脂酸(18:3n-3)可以提高转化为 DHA 的效率,证明 Δ 6 去饱和酶是一个限速步骤^[8-9]。本研究发现,与正常妊娠晚期孕妇相比,PE 患者血清、胎盘及胎儿血清中多个多不饱和脂肪酸均明显升高,这可能与 PE 患者因胎儿生长受限额外添加补充剂有关,也可能是因为 Δ 6 去饱和酶和 Δ 5 去饱和酶活性降低, α -亚麻酸代谢通路被限速,且这种母体代谢紊乱也影响胎儿该类物质的代谢。

PE 患者血清中和胎盘中也同时表现出牛磺酸及亚牛磺酸代谢紊乱。牛磺酸是一种含硫非蛋白氨基

酸,主要以游离形式出现在生物体内,不参与体内蛋白的生物合成,属于细胞保护剂,在细胞中表现出改善糖脂代谢、免疫调节、抗炎、抗氧化等多种生理功能^[10]。牛磺酸可以通过调节离子通道和交换系统来降低钙超载,进而发挥保护心肌的作用^[11]。另有研究表明,牛磺酸对多种原因如妊娠期糖尿病、炎症等引起的肝脏损伤具有保护作用^[12],同时在氧化应激诱导的脑组织及神经系统损伤中起到保护作用^[13]。本研究结果显示,PE 患者血清和胎盘组织中均检测到牛磺酸水平的下降,说明牛磺酸被大量消耗,牛磺酸的代谢都出现了障碍,这可能与牛磺酸对 PE 患者的脏器保护功能相关。

本研究中 PE 患者血清和胎儿血清中都出现了丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢紊乱,胎儿血清中还出现了谷氨酰胺和谷氨酸代谢紊乱。谷氨酸对维持氧化还原反应平衡,并通过产生谷胱甘肽来避免细胞出现氧化应激非常关键^[14],谷氨酰胺和谷氨酸通过三羧酸循环参与细胞能量代谢^[15]。机体的丙氨酸代谢主要涉及丙氨酸-葡萄糖循环,是维持机体能量代谢的重要环节^[16]。以上结果表明,PE 患者体内的氧化还原平衡及能量代谢出现了异常,并且这种改变同时也会影响子代健康。

此外,本研究结果显示,PE 组新生儿体重较小,且胎儿血清中出现了较为明显的精氨酸和脯氨酸代谢紊乱。已有研究通过代谢组学分析发现早发型 PE 患者血清中精氨酸和同型精氨酸水平降低^[17],精氨酸甲基化修饰后水解的产物可以通过干扰胎盘内皮功能和血管生成对胎儿发育产生不利影响,与胎儿生长受限相关^[18-19]。一项 meta 分析结果显示,补充 L-精氨酸增加了生长受限胎儿的出生体重,延长了分娩时的胎龄^[20]。

此外,PE 患者的血清及胎盘中 α -亚麻酸相对水平较对照组明显升高,且 ROC 曲线显示其具有较高的诊断价值。研究表明, α -亚麻酸能够通过抑制血管内皮细胞释放一氧化氮(nitric oxide, NO)减弱 NO 介导的血管舒张作用,这也符合 PE 患者高血压的临床表现^[21-22]。NO 在正常妊娠中对血管平滑肌及血压的调解有重要作用,是滋养层植入、分化、运动、侵袭和细胞凋亡的重要调节因子^[23],在胎盘发育、改善妊娠结局中也具有关键作用^[24]。基质金属蛋白酶和 NO 失衡通过调节胎盘血管生成参与了一些胎盘疾病和妊娠并发症的发生^[25],动物实验证明抑制 NO 释放可出现类似于 PE 的改变^[26],所以 NO 的缺乏或浓度降低可能是 PE 的病因之一。而 α -亚麻酸水平明显升高,这可能是导致 NO 水平降低的原因之一。

综上所述,本研究发现,PE 患者和正常妊娠晚期孕妇之间的血清、胎盘及胎儿血清代谢谱存在明显差异, α -亚麻酸代谢在各组标本中都表现出差异,且血清中 α -亚麻酸、 γ -谷氨酰苯丙氨酸、13S-羟基十八碳二烯

酸和 13-L-氢过氧亚油酸 4 种代谢差异物对诊断 PE 表现出较高的水平。本研究的结果不仅为 PE 的诊断提供了有意义的生物标志物,还为深入了解 PE 的发病机制提供了依据。这些标志物可能可以用于临床预测诊断 PE,揭示发病机制,其评价效果有待于后续增大标本量及临床进一步验证。

参考文献

- [1] SOUZA J P, GÜLMEZOĞLU A M, VOGEL J, et al. Moving beyond essential interventions for reduction of maternal mortality (the WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health): a cross-sectional study [J]. *Lancet*, 2013, 381(9879): 1747-1755.
- [2] RINSCHEN M M, IVANISEVIC J, GIERA M, et al. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(6): 353-367.
- [3] MAYRINK J, LEITE D F, NOBREGA G M, et al. Prediction of pregnancy-related hypertensive disorders using metabolomics: a systematic review [J]. *BMJ Open*, 2022, 12(4): e054697.
- [4] ZHANG X, BAO J, ZHANG Y, et al. Alpha-Linolenic acid ameliorates cognitive impairment and liver damage caused by obesity [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2024, 17: 981-995.
- [5] ZHU X, WANG B, ZHANG X, et al. Alpha-linolenic acid protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury through anti-inflammatory and anti-oxidative pathways [J]. *Microb Pathog*, 2020, 142: 104077.
- [6] HAJIZADEH-SHARAFABAD F, SHARIFI ZAHABI E. Role of alpha-lipoic acid in vascular function: a systematic review of human intervention studies [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62(11): 2928-2941.
- [7] LI G, WANG X, YANG H, et al. α -Linolenic acid but not linolenic acid protects against hypertension: critical role of SIRT3 and autophagic flux [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 83.
- [8] GAMMONE M A, RICCONI G, PARRINELLO G, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids: benefits and endpoints in sport [J]. *Nutrients*, 2019, 11(1): 1-16.
- [9] NORDING M L, YANG J, GEORGI K, et al. Individual variation in lipidomic profiles of healthy subjects in response to omega-3 fatty acids [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76575.

- [10] MAIA A R, BATISTA T M, VICTORIO J A, et al. Taurine supplementation reduces blood pressure and prevents endothelial dysfunction and oxidative stress in post-weaning protein-restricted rats [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (8): e105851.
- [11] 尹春园, 孙明谦, 金龙, 等. 基于液相色谱-质谱联用技术的心肌缺血大鼠血清和心肌组织代谢组学[J]. *色谱*, 2020, 38(2): 206-211.
- [12] LUO Y, TIAN Y, ZHAO C. Taurine attenuates liver autophagy and injury of offspring in gestational diabetic mellitus rats[J]. *Life Sci*, 2020, 257: 117889.
- [13] NIU X, ZHENG S, LIU H, et al. Protective effects of taurine against inflammation, apoptosis, and oxidative stress in brain injury[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(5): 4516-4522.
- [14] VISHNOI S, RAISUDDIN S, PARVEZ S. Glutamate excitotoxicity and oxidative stress in epilepsy: modulatory role of melatonin[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2016, 35 (4): 365-374.
- [15] ALDANA B I, ZHANG Y, LIHME M F, et al. Characterization of energy and neurotransmitter metabolism in cortical glutamatergic neurons derived from human induced pluripotent stem cells: a novel approach to study metabolism in human neurons [J]. *Neurochem Int*, 2017, 106: 48-61.
- [16] FERRARIO M, BRUNELLI L, SU F, et al. The systemic alterations of lipids, alanine-glucose cycle and inter-organ amino acid metabolism in swine model confirms the role of liver in early phase of septic shock[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 11.
- [17] YAO M, XIAO Y, YANG Z, et al. Identification of biomarkers for preeclampsia based on metabolomics [J]. *Clin Epidemiol*, 2022, 14: 337-360.
- [18] DAI Y, ZHANG J, LIU R, et al. The role and mechanism of asymmetric dimethylarginine in fetal growth restriction via interference with endothelial function and angiogenesis[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2020, 37(5): 1083-1095.
- [19] YU Y, LIU Y, SUI X, et al. Arginase 1 and L-arginine coordinate fetal lung development and the initiation of labor in mice[J]. *EMBO Rep*, 2023, 24(8): e56352.
- [20] CHEN J, GONG X, CHEN P, et al. Effect of L-arginine and sildenafil citrate on intrauterine growth restriction fetuses: a meta-analysis[J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2016, 16: 225.
- [21] LEE S H, KWON S C, OK S H, et al. Linolenic acid enhances contraction induced by phenylephrine in isolated rat aorta[J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 890: 173662.
- [22] LEE S H, OK S H, KIM J Y, et al. Linolenic acid attenuates the vasodilation induced by acetylcholine in isolated rat aortae[J]. *Dose Response*, 2019, 17(4): 1559325819894148.
- [23] ORTIZ-CERDA T, MOSSO C, ALCUDIA A, et al. Pathophysiology of preeclampsia and L-Arginine/L-Citrulline supplementation as a potential strategy to improve birth outcomes[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2023, 1428: 127-148.
- [24] PELS A, GANZEVOORT W, KENNY L C, et al. Interventions affecting the nitric oxide pathway versus placebo or no therapy for fetal growth restriction in pregnancy[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2023, 7(7): CD014498.
- [25] GUALDONI G S, BARRIL C, JACOBO P V, et al. Involvement of metalloproteinase and nitric oxide synthase/nitric oxide mechanisms in early decidual angiogenesis-vascularization of normal and experimental pathological mouse placenta related to maternal alcohol exposure[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1207671.
- [26] KRAUSE B J, HANSON M A, CASANELLO P. Role of nitric oxide in placental vascular development and function[J]. *Placenta*, 2011, 32 (11): 797-805.

(收稿日期: 2024-09-22 修回日期: 2024-12-28)

(编辑: 管佩钰)