

血清游离胆汁酸 CA, LCA 及胎盘 HIF-1 α 表达水平与 ICP 患者不良妊娠结局的相关性研究

王彤^a, 曾观银^a, 徐凤丹^a, 罗虹^a, 高博翰^a, 谢树锋^b, 程楚云^a

(广东省东莞市第八人民医院/东莞市儿童医院 a. 产科; b. ICU, 广东东莞 523325)

摘要:目的 探究血清游离胆汁酸胆酸(cholic acid, CA)、石胆酸(litho cholic acid, LCA)以及胎盘组织缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)表达水平与妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)患者不良妊娠结局间的关系。方法 选择2020年3月~2021年4月于广东省东莞市第八人民医院就诊的妊娠期肝内胆汁淤积症患者48例和无症状高胆汁酸血症(asymptomatic hypercholanemia of pregnancy, AHP)70例作为研究对象,分别记为ICP组和AHP组。所有孕妇分娩前抽取静脉血用于检测肝功能指标[总胆汁酸(TBA)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)]以及胆汁酸亚型[(胆酸(CA)、脱氧胆酸(DCA)、鹅脱氧胆酸(CDCA)、熊脱氧胆酸(UDCA)、石胆酸(LCA))]水平。产妇产后,记录两组产妇的妊娠结局,留取胎盘组织检测HIF-1 α 的阳性表达率。比较ICP产妇和AHP产妇一般临床指标间的差异并探究影响产妇不良妊娠结局的独立相关因素。结果 ICP组和AHP组产妇TBA($46.54 \pm 6.58 \mu\text{mol/L}$ vs $47.21 \pm 6.38 \mu\text{mol/L}$), ALT($38.26 \pm 5.37 \text{U/L}$ vs $36.58 \pm 5.72 \text{U/L}$), AST($28.48 \pm 3.54 \text{U/L}$ vs $28.92 \pm 3.85 \text{U/L}$)组间差异无统计学意义($t=0.639\sim 1.889$, 均 $P>0.05$); ICP组和AHP组产妇CA($3.78 \pm 0.63 \mu\text{mol/L}$ vs $1.24 \pm 0.56 \mu\text{mol/L}$), LCA($7.86 \pm 0.54 \mu\text{mol/L}$ vs $1.13 \pm 0.17 \mu\text{mol/L}$)组间差异有统计学意义($t=26.100\sim 113.936$, $P<0.001$)。ICP组产妇HIF-1 α 阳性表达率(68.75%)显著高于AHP组(41.43%),差异有统计学意义($\chi^2=12.359$, $P<0.05$)。ICP组不良妊娠结局的发生率显著高于AHP组(50.00% vs 28.57%),差异有统计学意义($\chi^2=5.591$, $P=0.018$)。TBA, CA, LCA以及HIF-1 α 均是影响不良妊娠结局的独立相关因素(Wald $\chi^2=6.516$, 7.215, 8.446, 8.516, $P=0.008$, 0.038, 0.042, 0.016)。结论 ICP产妇血清CA, LCA显著高于AHP组, HIF-1 α 高表达与ICP不良妊娠结局间存在显著的相关性。

关键词:妊娠期肝内胆汁淤积症; 妊娠期无症状高胆汁酸血症; 胆汁酸; 缺氧诱导因子-1 α

中图分类号: R714.2; R446.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414(2022)01-052-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.01.011

Correlation between Serum Free Bile Acid CA, LCA and Placental HIF-1 α Expression Levels and Adverse Pregnancy Outcomes in Patients with ICP

WANG Tong^a, ZENG Guan-yin^a, XU Feng-dan^a, LUO Hong^a, GAO Bo-han^a, XIE Shu-feng^b, CHENG Chu-yun^a

(a. Department of Obstetric; b. Department of ICU, the Eighth People's Hospital of Dongguan City / Dongguan Children's Hospital, Guangdong Dongguan 523325, China)

Abstract: Objective To explore serum free bile acid (CA), lithocholic acid (LCA) and hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) in placenta α (HIF-1 α) and investigate the relationship between the expression level and adverse pregnancy outcomes in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP). **Methods** 48 patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy (ICP) and 70 patients with asymptomatic hypercholanemia of pregnancy (AHP) from March 2020 to April 2021 were selected as objects. Venous blood before delivery were collected to detect liver function [total bile acid (TBA), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST)] and the levels of bile acid subtypes [cholic acid (CA), deoxycholic acid (DCA), chenodeoxycholic acid (CDCA), ursodeoxycholic acid (UDCA), lithocholic acid (LCA)]. After the parturients gave birth, the pregnancy outcomes of the two groups were recorded, and the placental tissues were collected to detect the rate of positive expression of hypoxia inducible factor-1 α . The differences of general clinical indicators between two groups were compared, and the independent related factors that affect the adverse pregnancy outcomes of women were analysed. **Results** There was a significant difference between the two group($t=0.639\sim 1.889$, all $P>0.05$) of TBA ($46.54 \pm 6.58 \mu\text{mol/L}$ vs $47.21 \pm 6.38 \mu\text{mol/L}$),

基金项目: 2019年东莞市社会科技发展(重点)项目(201950715028173)。

作者简介: 王彤(1982-),女,临床医学本科,主治医师,主研方向:产科。

通讯作者: 程楚云, E-mail: yhnj170@163.com。

ALT (38.26 ± 5.37 U/L vs 36.58 ± 5.72 U/L) and AST (28.48 ± 3.54 U/L vs 28.92 ± 3.85 U/L) in the ICP group and AHP group of maternal. There was a significant difference between the two groups ($t=26.100\sim 113.936$, all $P<0.05$) of CA (3.78 ± 0.63 μ mol/L vs 1.24 ± 0.56 μ mol/L), LCA (7.86 ± 0.54 μ mol/L vs 1.13 ± 0.17 μ mol/L) in ICP group and AHP group of maternal. The positive expression rate of HIF-1 α in the ICP group (68.75%) was significantly higher than that of the AHP group (41.43%), the difference was statistically significant ($\chi^2=12.359$, $P<0.05$). The incidence of adverse pregnancy outcomes in the ICP group was significantly higher than that in the AHP group (50.00% vs 28.57%), the difference was statistically significant ($\chi^2=5.591$, $P=0.018$). CA, LCA and HIF-1 α were independent factors that affect adverse pregnancy outcomes (Wald $\chi^2=6.516, 7.215, 8.446$, $P=0.008, 0.038, 0.042, 0.016$). **Conclusion** Serum CA and LCA in ICP patients were significantly higher than those of the AHP. The high expression of HIF-1 α was associated with the adverse pregnancy outcome of ICP.

Keywords: intrahepatic cholestasis of pregnancy; asymptomatic hypercholanemia of pregnancy; bile acid; hypoxia-inducible factor -1 α

妊娠期肝内胆汁淤积症 (intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP) 是中晚期妊娠的特殊并发症, 主要表现为血清总胆汁酸 (total bile acid, TBA) 升高, 伴随着黄疸、肝功能异常、皮肤瘙痒等, 同时对胎儿产生一定程度的危害, 可导致新生儿早产、胎儿窘迫、羊水粪染甚至死胎等一系列危害^[1-3]。血清 TBA 升高 ($\geq 10 \mu$ mol/L) 伴有皮肤瘙痒是诊断 ICP 的重要依据, 但无症状高胆汁酸血症 (asymptomatic hypercholanemia of pregnancy, AHP) 孕妇亦表现为血清 TBA 升高, 但不伴随其他临床症状。研究^[4]发现, ICP 和 AHP 具有不同的围产期结局, 及时鉴别诊断出 ICP 并进行干预治疗, 对于改善妊娠结局具有重要意义。有研究^[5]表明, ICP 患者胎盘组织中缺氧诱导因子 -1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 呈高表达, 但是 HIF-1 α 与 ICP 的研究较少, 怀疑其可能与 ICP 患者不良妊娠结局有关。本研究通过研究 AHP 和 ICP 患者胎盘 HIF-1 α mRNA 表达水平, 并采用超高效液相色谱串联质谱仪检测不同胆汁酸亚型, 旨在鉴别出能有效辨别 AHP 和 ICP 的胆汁酸亚型, 分析影响不良妊娠结局的独立相关因素。

1 材料和方法

1.1 研究对象 选择 2020 年 3 月 ~ 2021 年 4 月于广东省东莞市第八人民医院就诊的产妇作为研究对象, 其中妊娠期肝内胆汁淤积症患者 48 例为 ICP 组, 平均年龄 28.85 ± 5.84 岁, BMI 29.24 ± 2.76 Kg/m², 孕周 33.72 ± 0.86 周, 孕次 1.08 ± 0.24 次。同期无症状高胆汁酸血症 70 例为 AHP 组, 平均年龄 28.37 ± 6.02 岁, BMI 29.65 ± 2.63 Kg/m², 孕周 33.57 ± 0.97 周, 孕次 1.13 ± 0.21 次。两组产妇的年龄、BMI 值、孕周以及孕次间均无显著差异, 两组研究对象具有可比性。

纳入标准: ① ICP 组患者均符合 2015《妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南》中的诊断标准^[6], AHP 组患者仅表现为血清 TBA 升高 (空腹血 TBA $\geq 10 \mu$ mol/L), 但无黄疸、皮肤瘙痒且肝功能各项指标无异常; ②胎位正常 (头位)、单胎; ③无肝胆疾病、

无免疫系统疾病、血糖正常。排除标准: ①胎位异常、多胎妊娠; ②患有肝炎、胆囊炎或胆管堵塞等其他疾病; ③伴有妊娠期高血压、妊娠期糖尿病等妊娠期并发症; ④因其他病因引起皮肤瘙痒; ⑤伴有良恶性肿瘤。两组研究对象具有可比性, 本研究经我院伦理委员会审核通过, 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 HIF-1 α 抗体购自博士德生物工程有限公司; 二抗显色液购自广州安必平医药科技股份有限公司。血清中 TBA, ALT, AST 水平用全自动生化分析仪 (东芝 TBA120) 检测; 血清胆酸 (CA)、脱氧胆酸 (DCA)、鹅脱氧胆酸 (DCA)、熊脱氧胆酸 (UDCA)、石胆酸 (LCA) 水平用超高效液相色谱串联质谱仪 (ACQUITY UPLC I-Class IVD / Xevo TQ-S IVD System) 检测; 胎盘组织 HIF-1 α 的表达水平使用免疫组化技术检测。

1.3 方法

1.3.1 血清采集: 所有研究对象于分娩前抽取其空腹静脉血, 分离血清于 -80°C 保存, 使用全自动生化分析仪检测产妇的肝功能指标, 使用超高效液相色谱串联质谱仪检测产妇的不同胆汁酸亚型。

1.3.2 胎盘组织 HIF-1 α 采集与处理: 孕妇生产娩出胎盘后 30min 内, 无菌操作取胎盘母体近端胎盘 (尽量避开组织钙化区域以及坏死区域) 组织 3 块, 约 $2.5\text{cm} \times 2.5\text{cm} \times 2\text{cm}$ 大小。采用 10ml/dl 中性甲醛固定胎盘组织, 石蜡包埋切片, 经过脱蜡水化抗体修复后行免疫组织化学染色。血清封闭后加入 HIF-1 α 抗体, 4°C 过夜。PBS 洗涤 3 次 $\times 5\text{min}$, 滴加二抗, 37°C 孵育 1h, PBS 洗涤 3 次 $\times 5\text{min}$ 后显色液显色, 封片, 镜下观察。

胎盘组织 HIF-1 α 的表达判定标准为: HIF-1 α 主要表达于细胞浆和细胞核, 阳性着色呈黄色、棕黄色、褐色等。根据其着色程度分为: 0 分为无色, 1 分为淡黄色, 2 分为棕黄色, 3 分为褐色; 根据阳性细胞占比分为: 阳性细胞占比 $\leq 10\%$ 为 1 分, 占比 $11\% \sim 50\%$ 为 2 分, 占比 $51\% \sim 75\%$ 为 3 分, 占比 $> 75\%$ 为 4 分。HIF-1 α 表达计分 = 着色程度

评分 × 阳性细胞占比评分, 总分 0~12 分, < 3 分为阴性, 用“-”表示; 总分 3~5 分为弱阳性, 用“+”表示; 总分 6~9 分为阳性, 用“++”表示; 总分大于 9 分为强阳性, 用“+++”表示。

收集围产期结局, 记录两组产妇分娩结局, 包括早产、胎儿窘迫、羊水粪染程度、新生儿 Apgar 评分、入住新生儿重症监护室 (neonatal intensive care unit, NICU) 的发生率。

1.4 统计学分析 采用统计学软件 SPSS 22.0 进行统计学分析, 计量资料如年龄、BMI 值等采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间差异采用 t 检验; 计数资料如不良妊娠结局的发生率等采用率表示, 组间差异采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。采用 Logistic 回归分析影响不良妊娠结局的影响因素, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肝功能指标和胆汁酸水平的比较 见表 1。两组产妇 TBA, ALT, AST 水平间差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。ICP 组产妇 CA, LCA 水平显著高于 AHP 组, 差异具有统计学意义 (均 $P < 0.001$)。

表 1 肝功能指标和胆汁酸水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	ICP 组 ($n=48$)	AHP 组 ($n=70$)	t 值	P 值
TBA ($\mu\text{mol/L}$)	46.54 ± 6.58	47.21 ± 6.38	0.639	0.524
ALT(U/L)	38.26 ± 5.37	36.58 ± 5.72	1.889	0.061
AST(U/L)	28.48 ± 3.54	28.92 ± 3.85	0.745	0.458
胆汁酸: CA($\mu\text{mol/L}$)	3.78 ± 0.63	1.24 ± 0.56	26.100	<0.001
LCA($\mu\text{mol/L}$)	7.86 ± 0.54	1.13 ± 0.17	113.936	<0.001
DCA($\mu\text{mol/L}$)	4.72 ± 0.52	4.57 ± 0.49	1.829	0.069
CDCA($\mu\text{mol/L}$)	3.86 ± 0.54	3.74 ± 0.49	1.428	0.155
UDCA($\mu\text{mol/L}$)	11.64 ± 1.28	12.96 ± 2.69	1.639	0.116

2.2 两组胎盘组织 HIF-1 α 阳性表达率的比较 ICP 组产妇胎盘组织 HIF-1 α 阳性表达率为 68.75% (33/48), AHP 组产妇胎盘组织 HIF-1 阳性表达率为 41.43% (29/70), 差异具有统计学意义 ($\chi^2=12.359, P=0.006$)。

2.3 妊娠结局的比较 见表 2。ICP 组产妇分娩的新生儿体重较 AHP 组轻、身长较小, 差异均具有统计学意义 ($t=3.468, 3.399$, 均 $P<0.05$); ICP 组不良妊娠结局的发生率显著高于 AHP 组, 差异具有统计学意义 ($\chi^2=5.591, P=0.018$), 其中 ICP 组入住 NICU、羊水粪染以及医源性早产的发生率显著高于 AHP 组, 差异具有统计学意义 ($\chi^2=4.936, 11.011, 7.223, P=0.018$)。

2.4 不良妊娠结局的独立相关因素 见表 3。根据 ICP 产妇是否发生不良妊娠结局, 采用多因素

Logistic 回归分析其影响因素。多因素 Logistic 回归分析结果中, TBA, CA, LCA 以及 HIF-1 α 与不良妊娠结局间具有相关性, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 妊娠结局的比较 ($\bar{x} \pm s, n(\%)$)

项目	ICP 组 ($n=48$)	AHP 组 ($n=70$)	t/χ^2 值	P 值
体重 (g)	3152.6 ± 362.4	3357.4 ± 371.3	3.468	0.001
身长 (cm)	48.3 ± 1.6	49.6 ± 1.7	3.399	0.001
性别 (男/女)	25/23	38/32	0.038	0.846
Apgar 评分 <7 1 min	2(4.17)	4(5.71)	0.141	0.707
5 min	1(2.08)	1(1.43)	0.073	0.787
不良妊娠结局	24(50.00)	20(28.57)	5.591	0.018
NICU	9(18.75)	4(5.71)	4.936	0.026
胎儿窘迫	1(2.08)	5(7.14)	1.510	0.219
羊水粪染	12(25.00)	3(4.29)	11.011	0.001
早产 自发性	5(10.42)	7(10.00)	0.894	0.344
医源性	13(27.08)	6(8.57)	7.223	0.007

表 3 不良妊娠结局的独立相关因素

类别	B	SE	Wald χ^2	OR(95%CI)	P 值
TBA	0.634	0.316	6.516	1.325 (1.067~2.113)	0.008
CA	0.846	0.252	7.215	1.216 (1.052~1.834)	0.038
LCA	1.306	0.518	8.446	1.176 (1.042~1.724)	0.042
HIF-1 α	0.724	0.462	8.516	1.201 (1.084~1.562)	0.016

3 讨论

ICP 是造成妊娠期妇女肝脏损伤的常见病因, 增加了胎儿窘迫、低出生体重、羊水粪染、早产的发生率, 甚至可造成死胎、死产。TBA 升高是诊断 ICP 的重要依据, AHP 孕妇亦表现为 TBA 升高, 但是对妊娠结局、围生儿预后并无显著影响。近年来随着 ICP 的发病率不断增高, 严重影响了出生人口质量^[7], 有效、及时鉴别诊断 ICP 并进行干预成为当今临床研究的热点。

目前临床上对于 ICP 的诊断存在两种过激倾向^[8-11], 当空腹 TBA $\geq 10 \mu\text{mol/L}$ 确诊为 ICP 后, 部分医生出于尽早防止胎儿窘迫甚至死胎的发生, 会选择剖宫产提前终止妊娠, 提高了医源性早产、剖宫产的发生率; 另一种情况是采取期待疗法, 根据 B 超、胎心监测结果, 尽量延长孕周、鼓励阴道试产, 产妇一旦出现缩宫, 胎儿缺氧情况加重可能会窒息, 甚至可导致围产儿死亡。目前关于 AHP 在国内外的研究较少, 且对 ICP 的发病机制及规律的认识尚存在一定的局限性, 探讨能有效识别影响产妇不良妊娠结局的相关因素至关重要。AHP 和 ICP 均表现为 TBA 水平升高, TBA 水平升高可能导致

胆汁淤积,是对胎儿及产妇造成损害的重要原因^[12]。本研究中,AHP组和ICP组产妇血清TBA水平均显著升高,但是ICP产妇AST,ALT水平较AHP组显著升高。采用超高效液相色谱串联质谱仪检测胆汁酸亚型,结果表明,ICP患者CA,LCA水平较AHP显著提高,可作为鉴别ICP和AHP的有效指标。既往有研究^[13]表明,ICP患者的多种胆汁酸亚型水平会有大幅度的提升,胆汁酸类包括CA是主要升高的亚型。ICP患者鹅脱氧胆酸水平数倍升高,LCA是鹅脱氧胆酸在肠内经过脱羟基生成的单羟基胆汁酸,与鹅脱氧胆酸水平存在正相关性,ICP患者LCA水平亦显著升高,与本研究结论一致。

缺氧诱导因子(HIF)包括 α , β 亚基组成的二聚体转录因子,其中HIF-1 α 是功能亚基,可以根据氧浓度进行调控直接影响HIF活性,在机体缺氧应答、保持机体生理功能中发挥重要作用^[14-15]。有研究^[16]表明,HIF-1 α 通过调控VEGF参与胚胎血管生成,同时影响缺氧环境下的代谢功能及滋养层细胞功能达到调节妊娠胚胎生长的作用,在胚胎的发育、生长中扮演重要的角色。有学者^[17]发现,先兆子痫产妇胎盘HIF-1 α mRNA表达水平、HIF-1 α 蛋白表达水平以及与DNA的结合活性均显著升高。本研究结果表明,ICP产妇胎盘HIF-1 α mRNA表达水平较AHP显著提高,表明ICP产妇胎盘组织存在显著的缺氧,处于低氧应激状态。ICP组中,不良妊娠结局的发生率显著高于AHP组,与文献[18-20]发表的结论一致。多因素Logistic回归分析结果表明,ICP组产妇肝功能指标包括TBA,AST以及ALT均是影响不良妊娠结局的独立相关因素。有研究^[21]表明,根据肝功能指标将ICP分成不同的亚组,重度组不良妊娠结局的发生率明显高于轻度组,与本研究结论一致。

本研究初步探究了不同胆汁酸亚型辨别AHP,ICP的作用,但是本研究纳入的病例有限,且产妇妊娠过程中,不同胆汁酸亚型水平呈动态变化,本研究仅仅选取了孕晚期的患者作为研究对象,仍需进一步扩大样本量进行队列研究。本研究中,HIF-1 α 是影响ICP产妇不良妊娠结局的独立危险因素,但是与各不良妊娠结局间的相关性尚需进一步论证。综上所述,游离胆汁酸CA,LCA是鉴别ICP和AHP的有效因素,HIF-1 α 是影响ICP产妇不良妊娠结局的独立相关因素。

参考文献:

- [1] OH C C, OON H. Intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. *Cutis*, 2018, 102(3): E26-E27.
- [2] BICOCCA M J, SPERLING J D, CHAUHAN S P. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Review of six National and regional guidelines[J]. *European Journal*

of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2018, 231: 180-187.

- [3] CHEN Rong, DENG Mei, RAUF Y M, et al. Intrahepatic cholestasis of pregnancy as a clinical manifestation of Sodium-Taurocholate cotransporting polypeptide deficiency[J]. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2019, 248(1): 57-61.
- [4] CHEN Xiao, ZHANG Xiaoqing, XU Biao, et al. The urinary bile acid profiling analysis of asymptomatic hypercholanemia of pregnancy: A pseudo-targeted metabolomics study[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2019, 497: 67-75.
- [5] 杨琳,李慧敏,朱艳. 妊娠期肝内胆汁淤积症患者肝功能、胎盘组织中HSP70, HIF-1 α 的表达变化及其意义[J]. *中国生育健康杂志*, 2019, 30(4):367-370.
- [6] YANG Lin, LI Huimin, ZHU Yan. Changes in the expression of HSP70 and HIF-1 α in liver function and placenta tissue in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy and their significance[J]. *Chinese Journal of Reproductive Health*, 2019, 30(4):367-370.
- [6] 中华医学会妇产科学分会产科学组. 妊娠期肝内胆汁淤积症诊疗指南(2015)[J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(7):481-485.
- [7] SMITH D D, ROOD K M. Intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 2020, 63(1): 134-151.
- [8] BEUERS U, DE VRIES E. Reply to: "UDCA therapy in intrahepatic cholestasis of pregnancy?" [J]. *Journal of Hepatology*, 2020, 72(3): 587-588.
- [9] KUMAR P, KULKARNI A. UDCA therapy in intrahepatic cholestasis of pregnancy?[J]. *Journal of Hepatology*, 2020, 72(3): 586-587.
- [10] MEI Youwen, LIN Yonghong, LUO Dan, et al. Perinatal outcomes in intrahepatic cholestasis of pregnancy with monochorionic diamniotic twin pregnancy[J]. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2018, 18(1): 321-323.
- [11] PALMER K R, XIAOHUA L, MOL B W. Management of intrahepatic cholestasis in pregnancy[J]. *Lancet*, 2019, 393(1174): 853-854.
- [12] WHITTINGTON J R, ALLEN L R, ENNEN C S, et al. Relationship between maternal serum bile acid levels and fetal cardiac Troponin-I levels in asymptomatic pregnant patients at term: a cross-sectional observational study[J]. *Cureus*, 2019, 11(8): e5508.
- [13] 俞黎铭,施新颜,陈益明,等. 高效液相色谱串联质谱法检测妊娠期肝内胆汁淤积症7种胆汁酸及其临床意义[J]. *中华全科医学*, 2020, 18(7):1153-1156, 1199.
- [13] YU Liming, SHI Xinyan, CHEN Yiming, et al. Comparison of seven bile acids in intrahepatic cholestasis by HPLC-MS/MS at different gestational stages and the clinical significance [J]. *Chinese Journal of General Practice*, 2020, 18(7):1153-1156, 1199.