

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.06.001

建立 LC-MS/MS 检测血清中 5 种脂溶性维生素的方法及临床验证*

于 鹏¹, 周传贵¹, 楚士颖¹, 李 艳^{1,2}, 迟 伟¹, 田 晗³, 程文播^{1,2△}

1. 天津国科医疗科技发展有限公司, 天津 300399; 2. 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所, 江苏苏州 215163; 3. 辽宁省沈阳市妇幼保健院, 辽宁沈阳 110014

摘要:目的 建立液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)方法同时检测血清中维生素 A、维生素 D(25-OH-D₂、25-OH-D₃)、维生素 E 和维生素 K₁ 水平, 并通过血清样品验证。方法 以同位素标记的维生素 A-d₄、25-OH-D₂-d₆、25-OH-D₃-d₆、维生素 E-d₆ 和维生素 K₁-d₇ 作为内标, 在血清样品中利用甲醇/乙腈混合溶液沉淀蛋白质, 然后用正己烷萃取脂溶性维生素, 采用 Phenomenex Kinetex C18(50.0 mm×3.0 mm, 2.6 μm) 色谱柱, 柱温设置为 40℃, 流动相分别为 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸甲醇溶液, 以 0.6 mL/min 的流速进行梯度洗脱, 质谱采用大气压化学电离正离子 MRM 模式。结果 维生素 A、25-OH-D₂、25-OH-D₃、维生素 E 和维生素 K₁ 在相应浓度范围内线性关系良好, 线性相关系数均大于 0.998, 其日内精密度和日间精密度的在 1.87%~9.81%, 加标回收率在 91.47%~107.30%, 携带污染率在-6.03%~2.14%, 均在可接受范围之内。结论 成功建立了 LC-MS/MS 方法同时测定人血清中维生素 A、25-OH-D₂、25-OH-D₃、维生素 E 和维生素 K₁ 的水平, 该方法前处理简便, 分析速度快, 灵敏度高, 专属性强且各被检测物质的线性关系良好, 整个检测过程简单、规范, 适合临床血清样品的检测。

关键词: 维生素 A; 维生素 D; 维生素 E; 维生素 K₁; 液相色谱-串联质谱; 定量检测

中图分类号: R446.11

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)06-0721-06

Establishment and clinical validation of LC-MS/MS method for detecting five serum fat-soluble vitamins*

YU Peng¹, ZHOU Chuangui¹, CHU Shiyang¹, LI Yan^{1,2}, CHI Wei¹, TIAN Han³, CHENG Wenbo^{1,2△}

1. Tianjin Guoke Medical Technology Development Co., Ltd., Tianjin 300399, China;

2. Suzhou Institute of Biomedical Engineering Technology, Chinese Academy of Sciences,

Suzhou, Jiangsu 215163, China; 3. Shenyang Municipal Maternal and Child Health

Care Hospital, Shenyang, Liaoning 110014, China

Abstract: **Objective** To establish the LC-MS/MS method for simultaneously determining serum vitamin A, vitamin D (25-OH-D₂, 25-OH-D₃), vitamin E and vitamin K₁ levels, and to pass the serum sample validation. **Methods** Isotopically labeled vitamin A-d₄, 25-OH-D₂-d₆, 25-OH-D₃-d₆, vitamin E-d₆ and vitamin K₁-d₇ served as the internal standards. The methanol/acetonitrile mixture in serum samples was used to precipitate the protein, then normal hexane was used to extract the fat-soluble vitamins. A Phenomenex Kinetex C18 (50.0 mm×3.0 mm, 2.6 μm) column was used with the column temperature set at 40℃ and the mobile phases were 0.1% formic acid aqueous solution and 0.1% formic acid methanol solution, and the gradient elution was performed at a flow rate of 0.6 mL/min. The mass spectrometry adopted the atmospheric pressure chemical ionization positive ion MRM mode. **Results** Vitamin A, 25-OH-D₂, 25-OH-D₃, vitamin E and vitamin K₁ showed good linearity in the corresponding concentration ranges with linear correlation coefficients greater than 0.998, and their intra-day precision and inter-day precision were 1.87%~9.81%. The spiked recoveries ranged 91.47%~107.30%, and the carryover contamination rates ranged -6.03%~2.14%, which all were within the acceptable range. **Conclusion** The LC-MS/MS method is successfully established for the simultaneous determination of vitamin A, 25-OH-D₂, 25-OH-D₃, vitamin E and vitamin K₁ in human serum. The method is simple in pretreatment and fast in analysis with high sensitive and strong specificity, moreover the

* 基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2021YFC2401100)。

作者简介: 于鹏, 男, 工程师, 主要从事医质用质谱的应用研究。△ 通信作者, E-mail: chengwb@sibet.ac.cn。

网络首发 https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20240130.1626.014(2024-01-31)

linear relationship among various detected materials is good, and the whole detection procedure is simple and standardized, which is suitable for the determination of clinical serum samples.

Key words: vitamin A; vitamin D; vitamin E; vitamin K₁; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; quantitative detection

脂溶性维生素是人体保持最佳新陈代谢状态所必需的微量营养素,主要包括维生素 A、维生素 D、维生素 E 和维生素 K 4 种^[1]。随着研究的深入,脂溶性维生素的作用早已不局限于人们的初步认识,比如夜盲症[维生素 A(VA)缺乏]、骨软化症(维生素 D 缺乏)、氧化应激异常[维生素 E(VE)缺乏]和异常出血(维生素 K 缺乏)等,而是发现脂溶性维生素的异常变化与越来越多的疾病及其他生理状态有关^[2]。有研究表明 VA 可促进免疫系统发育^[3],增强免疫力^[4],其含量低甚至与成人早期肥胖有关^[5];维生素 D 在某些精神性疾病和糖尿病的预防方面有一定作用^[6-7];适宜浓度的 VE 对癌症预防和糖尿病肾病、非酒精性脂肪肝的治疗有所帮助^[8-9];维生素 K 则与儿童的矮小症和成人的冠心病有一定关联^[10-11]。因此,建立一种快速、准确的临床检测多种脂溶性维生素的方法愈发重要,这将大大加快人们研究以及运用各种脂溶性维生素的进程。

近年来,国内外液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术正在快速发展。放射免疫法和酶联免疫法等传统检测方法^[12-13]存在放射污染的潜在风险及易与其他非目标化合物发生交叉反应而导致特异性差等缺点。LC-MS/MS 具有高特异度、高灵敏度、高准确性等优势,使之在检测领域的各个方面被快速推广^[14],特别是在维生素检测方面^[15],LC-MS/MS 可以同时检测 25-羟基维生素 D₂(25-OH-D₂)和 25-羟基维生素 D₃(25-OH-D₃)的精确浓度,使之成为国际上公认的维生素 D 检测的金标准^[16]。当然,该方法也面临所需样品量大、前处理复杂耗时且仪器操作较为复杂等问题。为了进一步拓展 LC-MS/MS 在检测维生素方面的应用,大量学者开展了相关研究,例如陈敏纯等^[17]开发了仅需 200 μL 血清样品即可检测 4 种脂溶性维生素的方法。本研究则将针对 VA、维生素 D(25-OH-D₂、25-OH-D₃)、VE 和维生素 K₁(VK₁)5 种脂溶性维生素建立 LC-MS/MS 的检测方法,实现利用更少的样品(100 μL 血清),进行简单的前处理过程,使用同位素标记法在短时间内同时对 5 种脂溶性维生素实现精准定量,并对临床血清样品进行验证,为临床医生的准确判断提供真实、可靠的体内脂溶性维生素水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究所选仪器:天津国科医疗科技发展有限公司生产的 HTQ 2020 高效液相色谱串联质谱检测系统,德国 Eppendorf 公司生产的高速冷

冻离心机,杭州奥盛仪器有限公司生产的氮吹仪;所选试剂:购于美国 Sigma-Aldrich 公司的 VA、25-OH-D₂、25-OH-D₃、VE,购于上海甄准生物科技有限公司的 VA-d₄、25-OH-D₂-d₆、25-OH-D₃-d₆、VE-d₆,购于上海谱芬生物科技有限公司的 VK₁、VK₁-d₇,甲酸、甲醇、正己烷、乙腈等均为色谱级试剂;所选样品为 2021 年 10 月至 2022 年 6 月在沈阳市妇幼保健院健康查体的 19 例随机健康人血清。

1.2 样品前处理 取 100 μL 标准溶液或样品,为消除人体血清中的不同内源性物质对维生素检测的基质效应,加入 10 μL 同位素内标工作液,加入 200 μL 甲醇/乙腈混合溶液涡旋混匀 2 min,加入 600 μL 正己烷,涡旋混匀 2 min,4 000 r/min 离心 5 min,取 500 μL 上清液,室温氮气吹干,加入乙腈水溶液复溶后上机测试。

1.3 液相色谱条件 采用 Phenomenex Kinetex C18 (50.0 mm×3.0 mm,2.6 μm)色谱柱,柱温设置为 40 ℃,流动相 A 相为 0.1%甲酸水溶液,流动相 B 相为 0.1%甲酸甲醇溶液,洗脱程序见表 1,流速为 0.6 mL/min,进样体积为 20 μL。

表 1 梯度洗脱时间程序			
时间(min)	A(%)	B(%)	流速(mL/min)
0	20	80	0.6
0.50	8	92	0.6
1.00	2	98	0.6
5.50	2	98	0.6
5.51	20	80	0.6
6.50	20	80	0.6

1.4 质谱条件 采用多反应监测(MRM)、大气压化学电离正离子模式(APCI⁺),离子源温度 300 ℃,气帘气压 10 psi,喷雾气压 50 psi,加热气压 10 psi,碰撞气压 9 psi;5 种脂溶性维生素的 MRM 离子参数见表 2。

1.5 定量下限 根据脂溶性维生素的临床检测需求及仪器设备的灵敏度,设置本方法的定量下限:VA 为 50 ng/mL、25-OH-D₂ 为 2 ng/mL、25-OH-D₃ 为 2 ng/mL、VE 为 1 000 ng/mL、VK₁ 为 0.5 ng/mL,连续检测 12 次,计算检测值和理论值的偏差以及测试结果的相对标准偏差(RSD)。

1.6 精密度、加标回收率和携带污染测定 (1)按 1.2 样品前处理方法在含 5%BSA 标本中添加不同浓度的标准溶液作为质控样品(低浓度质控 QCL、中浓

度质控 QCM、高浓度质控 QCH), 每个浓度质控样品重复制备 3 份, 按上述分析条件对质控样品进行每天 3 次检测, 连续检测 3 d, 以衡量其日内精密度和日间精密度。(2) 在收集的健康人血清样品中添加不同浓度的标准溶液(QCL、QCM、QCH) 获得不同浓度的加标样品, 按 1.2 样品前处理方法对健康人血清样品和加标样品进行处理, 每个浓度样品重复制备 6 份, 按上述的检测方法对各加标回收样品进行分析, 利用各标准品的校准曲线计算不同样品浓度, 各浓度质控样品与实际血清样品的检测值差值与实际添加的标准品浓度的比值作为加标回收率。(3) 对该方法的携带污染进行评估, 先重复进样低浓度标本, 然后交替进样高浓度标本和低浓度标本。通过比较第 1 次进样的低浓度标本检测结果与随后进样的低浓度标本检验结果的差异, 得到携带污染率。

表 2 5 种脂溶性维生素及其内标的 MRM 离子参数

化合物	母离子	子离子	去簇电压(V)	入口电压(V)	碰撞动能(V)	出口电压(V)
VA	269.1	93.1	36	8	30	18
VA-d4	273.1	95.1	40	8	32	18
25-OH-D ₂	413.3	337.3	40	8	16	24
25-OH-D ₂ -d6	419.3	337.3	44	5	17	22
25-OH-D ₃	401.3	365.3	35	10	17	10
25-OH-D ₃ -d6	407.3	371.4	35	9	18	20
VE	431.1	165.2	45	10	33	10
VE-d6	437.1	171.2	45	8	30	12
VK ₁	451.1	187.1	50	10	35	10
VK ₁ -d7	458.1	194.1	50	9	33	13

2 结 果

2.1 定量下限标本测试结果 VA、25-OH-D₂、25-OH-D₃、VE、VK₁ 测试值和理论值的偏差均在 15% 以内, 测试的平行标本 RSD 在 15% 以内。见表 3。

2.2 MRM 色谱图与线性测试结果 经上述 1.2 样品前处理后, 在上述色谱条件及质谱条件下获得 5 种

脂溶性维生素及其内标的 MRM 色谱图, 见图 1。

根据 VA、25-OH-D₂、25-OH-D₃、VE、VK₁ 的临床检测需求确定检测范围, 并在检测范围需求内设置浓度梯度, 检测梯度浓度的标准品, 将目标分析物和内标峰面积的比值与梯度浓度进行拟合, 得到工作曲线, 拟合曲线及曲线方程如图 2 所示。由图可知标准曲线呈良好的线性关系, 且 *r* 值均在 0.998 以上, 因此该检测方法的线性范围分别是 VA 为 50~2 000 ng/mL、25-OH-D₂ 为 2~150 ng/mL、25-OH-D₃ 为 2~250 ng/mL、VE 为 1 000~16 000 ng/mL、VK₁ 为 0.5~20 ng/mL。

2.3 精密度测定结果 日内精密度和日间精密度结果如表 4 所示, 日内精密度在 1.87%~8.50%, 日间精密度在 2.85%~9.81%。

2.4 加标回收率测定结果 加标回收率测定结果如表 5 所示, 结果显示在 91.47%~107.30%。

表 3 定量下限标本测试结果 (*n* = 12)

化合物	检测结果(ng/mL)	准确度(%)	RSD(%)
VA	52.68±3.19	105.36±6.37	6.05
25-OH-D ₂	1.97±0.14	98.47±7.05	7.16
25-OH-D ₃	1.97±0.15	98.41±7.46	7.58
VE	990.00±50.00	99.05±4.58	4.62
VK ₁	0.49±0.02	97.35±4.85	4.98

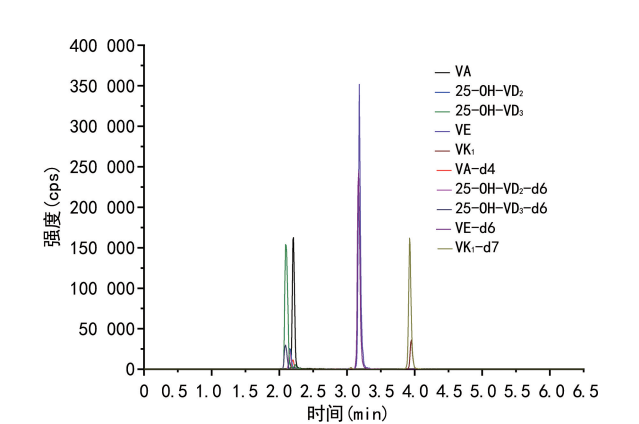


图 1 5 种脂溶性维生素标准溶液及其相对应的内标 MRM 色谱图

表 4 脂溶性维生素低、中、高浓度样品日内精密度和日间精密度考察结果 (*n* = 3)

化合物	日内检测结果(ng/mL)	日内精密度(%)	日间检测结果(ng/mL)	日间精密度(%)
VA	104.21±3.93	3.77	104.71±3.10	2.96
	789.36±14.76	1.87	797.75±36.78	4.61
	1 596.01±34.00	2.13	1 572.20±44.81	2.85
25-OH-D ₂	4.84±0.34	7.03	4.89±0.35	7.23
	50.04±3.82	7.64	50.90±3.30	6.48
	102.56±8.72	8.50	101.83±7.73	7.59
25-OH-D ₃	4.92±0.21	4.36	4.94±0.30	6.01
	105.69±3.65	3.45	106.49±4.17	3.92
	214.94±10.21	4.75	216.27±9.56	4.42

续表 4 脂溶性维生素低、中、高浓度样品日内精密度和日间精密度考察结果 (n=3)

化合物	日内检测结果(ng/mL)	日内精密度(%)	日间检测结果(ng/mL)	日间精密度(%)
VE	2 004.98±103.06	5.14	2 029.98±111.04	5.47
	7 744.37±277.25	3.58	7 879.37±465.67	5.91
	13 181.13±255.71	1.94	12 797.75±502.95	3.93
VK ₁	0.51±0.04	8.06	0.49±0.05	9.81
	4.06±0.13	3.25	4.15±0.19	4.52
	10.56±0.51	4.86	10.42±0.52	4.98

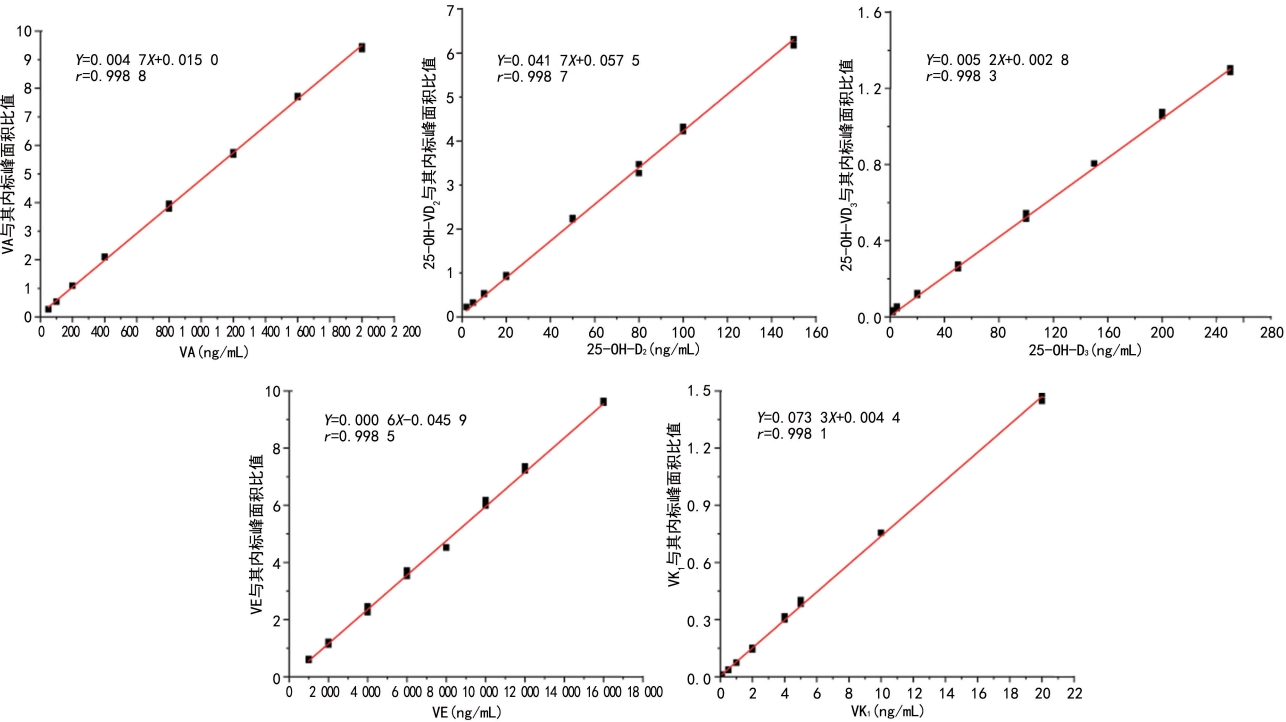


图 2 5 种脂溶性维生素的标准曲线图

表 5 脂溶性维生素低、中、高浓度样品加标回收率考察结果 (n=6)

化合物	本底值(ng/mL)	加标值(ng/mL)	检测值(ng/mL)	回收率(%)
VA	245.82	100	344.78±9.73	98.96
		800	977.60±18.95	91.47
		1 600	1 724.68±90.99	92.43
25-OH-D ₂	0.36	5	5.23±0.23	97.37
		50	54.01±1.64	107.30
		100	100.30±7.63	99.94
25-OH-D ₃	6.02	5	10.94±0.40	98.37
		100	202.88±13.86	104.23
		200	216.27±9.56	98.43
VE	6 350.21	2 000	8 433.21±86.06	104.15
		8 000	13 975.92±445.07	95.32
		12 000	18 150.34±835.03	98.33
VK ₁	0.74	0.5	1.24±0.03	99.67
		4	4.70±0.19	98.92
		10	10.61±0.42	98.67

2.5 携带污染 各脂溶性维生素携带污染率如下：VA 为 1.32%，25-OH-D₂ 为 -0.05%，25-OH-D₃ 为 -6.03%，VE 为 -3.93%，VK₁ 为 2.14%。

2.6 血清样品检测 使用本方法对 19 例健康者血清样品进行处理检测，检测结果如下：VA 为 250.00~730.00 ng/mL，25-OH-D₂ 为 0.46~5.82 ng/mL，25-OH-D₃ 为 3.97~42.47 ng/mL，VE 为 2 200.00~13 100.00 ng/mL，VK₁ 为 0.13~1.51 ng/mL。空白样品的 MRM 色谱图如图 3 所示，人血清样品的 MRM 色谱图如图 4 所示。

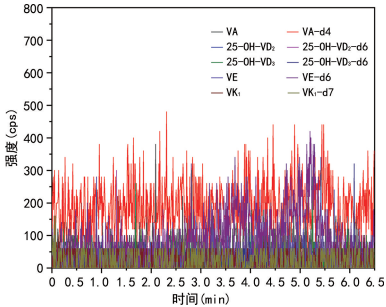


图 3 空白样品中 5 种脂溶性维生素及其相对应的内标 MRM 色谱图

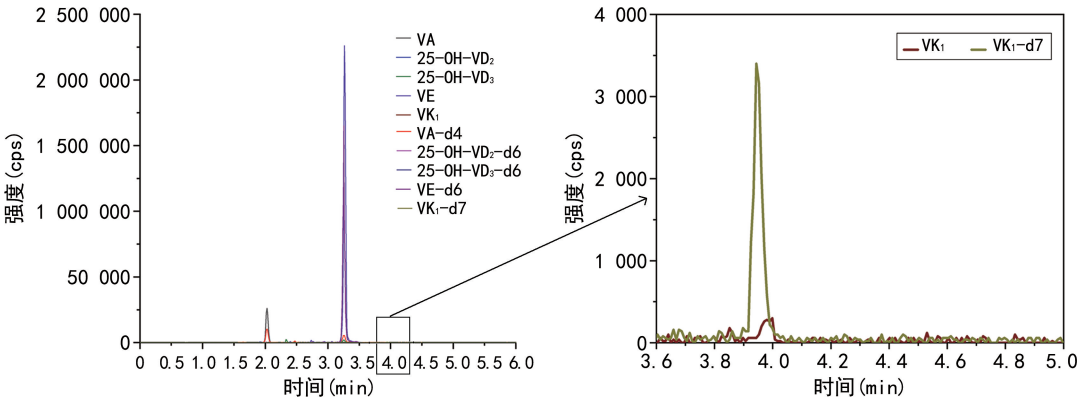


图 4 人血清样品中 5 种脂溶性维生素及其相对应的内标 MRM 色谱图

3 讨 论

不同脂溶性维生素在不同人群体内的含量差别十分明显，其作用也各不相同，而且往往是多种维生素共同起作用而产生影响。有研究证明孕妇这一特殊群体更易出现 25-OH-D₂、25-OH-D₃ 缺乏的现象^[18]，而缺乏 VA 和 VE 的新生儿更易发生低体质量和免疫力低下等问题^[19]，另外骨质疏松症的患者更可能存在维生素 D 和维生素 K 缺乏的现象^[20]。然而，传统的检测方式难以同时对多种脂溶性维生素的准确定量检测。LC-MS/MS 可以在较宽的检测范围内快速、准确地获得未知样品中待测物质的浓度，具有更高的特异度和准确度，可以为临床检测提供更为可靠的参考结论，从而更快速地为患者制订治疗方案。但该技术需要的样本量相对较多，操作具有一定的复杂性，使之难以在普通医院推广^[21]。因此本研究进一步简化其操作流程，减少样品用量，规范整个检测过程，医护人员仅需简单培训即可掌握该操作，在几分钟内完成整个检测过程。

另外，本研究针对血清中 VA、25-OH-D₂、25-OH-D₃、VE 和 VK₁ 建立的 LC-MS/MS 方法检测结果显示，各种脂溶性维生素在标准曲线浓度范围内线性程度良好，日内精密度和日间精密度较为理想，利用新鲜血清进行加标检测证明加标回收率良好，在检测高浓度及其以下浓度标本时不存在明显的携带污染，可满足临床检测要求。而且，针对真实健康者血清样品的检测结果显示，各种脂溶性维生素水平符合当地人群

的特点^[22]，证实本研究所建立的方法切实适合临床检测。

综上所述，本研究成功建立了一种针对人血清中 5 种脂溶性维生素快速定量的 LC-MS/MS 方法，不仅操作简单，而且定量准确，适合临床血清样品的检测，可以为临床医生的医学诊断提供真实、可靠的体内脂溶性维生素水平，帮助不同人群进行健康水平判断和相关疾病治疗。

参考文献

[1] SAMAD N, DUTTA S, SODUNKE T E, et al. Fat-soluble vitamins and the current global pandemic of COVID-19: evidence-based efficacy from literature review[J]. J Inflamm Res, 2021, 14: 2091-2110.

[2] 饶华春, 粘少硕, 庄跃玲. 25-羟维生素 D 检测方法的研究进展[J]. 中国医药指南, 2019, 17(25): 19-20.

[3] HUANG Z Y, LIU Y, QI G Y, et al. Role of vitamin a in the immune system[J]. J Clin Med, 2018, 7(9): 258.

[4] 刘恋红. 维生素 A 辅助治疗儿童支气管哮喘的临床疗效及其对血清炎症因子和 T 淋巴细胞水平的影响[J]. 中国妇幼保健, 2023, 38(6): 1014-1019.

[5] CORREA-RODRÍGUEZ M, LUIS GÓMEZ-URQUIZA J, MEDINA-MARTÍNEZ I, et al. Low intakes of vitamins C and A are associated with obesity in early adulthood[J]. Int J Vitam Nutr Res, 2022, 92(3/4): 204-213.

[6] SIRACUSANO M, RICCONI A, ABATE R, et al. Vitamin D deficiency and autism spectrum disorder[J]. Curr Pharm Des, 2020, 26(21): 2460-2474. (下转第 732 页)

[9] RÖCKEN C. Predictive biomarkers in gastric cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2023, 149(1): 467-481.

[10] LIU H Y, GAO Y J, SONG D F, et al. Correlation between microRNA-421 expression level and prognosis of gastric cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(11): 15128-15132.

[11] KIM Y J, JEONG S, JUNG W Y, et al. MiRNAs as potential biomarkers for the progression of gastric cancer inhibit CREBZF and regulate migration of gastric adenocarcinoma cells[J]. Int J Med Sci, 2020, 17(6): 693-701.

[12] POURDAVOUD P, PAKZAD B, MOSALLAEI M, et al. MiR-196: emerging of a new potential therapeutic target and biomarker in colorectal cancer[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(12): 9913-9920.

[13] YUAN C, XIE H, CHEN X, et al. Roles of miR-196a and miR-196b in zebrafish motor function[J]. Biomolecules, 2023, 13(3): 554-561.

[14] CHEN L, TANG H R, LIU G B, et al. MicroRNA-196b promotes gastric cancer progression by targeting ECRG4[J]. Anticancer Drugs, 2021, 32(2): 127-137.

[15] LIM J Y, YOON S O, SEOL S Y, et al. Overexpression of miR-196b and HOXA10 characterize a poor-prognosis gastric cancer subtype[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(41): 7078-7088.

[16] 娄智, 吉亚君, 王鑫, 等. miRNA-1 对胃癌细胞体外 EGFR-TKI 敏感性影响的实验研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2022, 27(2): 103-108.

[17] ZENG W W, ZHANG S X, YANG L, et al. Serum miR-101-3p combined with pepsinogen contributes to the early diagnosis of gastric cancer[J]. BMC Med Genet, 2020, 21(1): 28.

[18] SHI Y T, WANG Z H, ZHU X J, et al. Exosomal miR-1246 in serum as a potential biomarker for early diagnosis of gastric cancer[J]. Int J Clin Oncol, 2020, 25(1): 89-99.

[19] DOUDA L, CYRANY J, TACHECÍ I. Early gastric cancer[J]. Vnitr Lek, 2022, 68(6): 371-375.

[20] CHEN T H, CHIU C T, LEE C, et al. Circulating microRNA-22-3p predicts the malignant progression of precancerous gastric lesions from intestinal metaplasia to early adenocarcinoma[J]. Dig Dis Sci, 2018, 63(9): 2301-2308.

[21] ZHENG J H, JIANG X T, JIANG K L, et al. MiR-196a-5p correlates with chronic atrophic gastritis progression to gastric cancer and induces malignant biological behaviors of gastric cancer cells by targeting ACER2[J]. Mol Biotechnol, 2023, 65(8): 1306-1317.

[22] SALIMINEJAD K, MAHMOODZADEH H, SOLEYMANI F S, et al. A panel of circulating microRNAs as a potential biomarker for the early detection of gastric cancer[J]. Avicenna J Med Biotechnol, 2022, 14(4): 278-286.

(收稿日期: 2023-11-06 修回日期: 2024-02-02)

(上接第 725 页)

[7] 胡雨晨, 郑怡然, 杜涛, 等. 2022 年糖尿病相关重要临床进展回顾[J]. 中国实用内科杂志, 2023, 43(5): 381-383.

[8] YANG C S, LUO P, ZENG Z S, et al. Vitamin E and cancer prevention: studies with different forms of tocopherols and tocotrienols[J]. Mol Carcinog, 2020, 59(4): 365-389.

[9] 段娟, 张松波. 维生素 E 在慢性病治疗中的研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(28): 178-181.

[10] 杨婷婷, 刘晓静. 矮小症患儿维生素 K₂ 水平与骨代谢之间关系的研究[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(17): 2393-2397.

[11] HAUGSGJERD T R, EGELAND G M, NYGÅRD O K, et al. Association of dietary vitamin K and risk of coronary heart disease in middle-age adults: the Hordaland health study cohort[J]. BMJ Open, 2020, 10(5): e035953.

[12] 王晶晶. 全自动荧光免疫分析仪在临床检验中的应用分析[J]. 中国医疗器械信息, 2023, 29(4): 106-109.

[13] 李思燃, 付志成, 张惠迪, 等. 液相色谱-串联质谱法和酶联免疫法检测人血清中 25-羟基维生素 D 的一致性评价[J]. 卫生研究, 2020, 49(3): 447-452.

[14] 易可可, 谢洁, 江游, 等. 液相色谱-串联质谱技术在临床检验中的应用研究进展[J]. 质谱学报, 2022, 43(6): 804-816.

[15] 童小平. 25-羟基维生素 D 检测方法综述[J]. 预防医学, 2018, 30(3): 278-280.

[16] ALEXANDRIDOU A, SCHORR P, STOKES C S, et al. Analysis of vitamin D metabolic markers by mass spectrometry: recent progress regarding the "gold standard" method and integration into clinical practice[J]. Mass Spectrom Rev, 2023, 42(5): 1647-1687.

[17] 陈敏纯, 张婧一, 郑洁, 等. LC-MS/MS 法测定人体血清中脂溶性维生素浓度[J]. 分析仪器, 2021(6): 135-139.

[18] 耿晓丽, 余红梅. 孕妇维生素 D 水平的影响因素分析[J]. 护理研究, 2023, 37(1): 34-39.

[19] 张若愚, 钟铭清, 何先知, 等. 维生素 A、E 缺乏对新生儿疾病患病情况的影响[J]. 预防医学论坛, 2022, 28(11): 816-818.

[20] 彭科军, 余三峰, 彭濡博, 等. 老年骨质疏松患者骨代谢指标与维生素 D 和维生素 K 水平的相关性[J]. 中国临床保健杂志, 2022, 25(4): 496-499.

[21] REDA H L, SOLIMAN S, GIRGUIS H, et al. A comparison between three different automated total 25-hydroxyvitamin D immunoassay methods and ultra performance liquid chromatography[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2020, 21(4): 1039-1044.

[22] LIU Y S, XIA Y, WU Q J, et al. Associations between serum vitamins and serum uric acid in a population of Shenyang, China[J]. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2021, 67(2): 77-83.

(收稿日期: 2023-08-30 修回日期: 2024-01-18)