

缬沙坦治疗原发性高血压患者血浆蛋白质组研究

王佐广, 彭晓云, 李梅, 张蓓, 王丽娟, 刘洁琳, 刘雅, 魏永祥, 温绍君

摘要:目的 探讨缬沙坦治疗前后原发性高血压(EH)患者血浆蛋白质组差异。方法 筛选健康正常血压者及 EH 患者, 设为正常对照组(NT 组)、EH 患者(EH 组)、缬沙坦治疗伴有心肌肥厚 EH 患者(EHT1 组)和缬沙坦治疗不伴有心肌肥厚 EH 患者(EHT2 组), 每组 21 例。分离血浆, 去除高丰度蛋白质, 制备蛋白质样品, 使用二维电泳结合基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术, 进行各组血浆蛋白质组的分析和鉴定。结果 与 NT 组比较, EH 组和 EHT1 组的血肌酐显著升高($P < 0.05$), EH 组、EHT1 组和 EHT2 组收缩压显著升高($P < 0.05$)。与 NT 组比较, EH 组血浆中存在 22 个差异表达的蛋白质点, 其中 16 个表达量上调, 6 个下调; EHT1 组存在 12 个, 其中 10 个上调, 2 个下调; EHT2 组存在 11 个, 9 个上调, 2 个下调。与 EH 组比较, EHT1 组存在 17 个差异表达的蛋白质点, 其中 4 个上调, 13 个下调; EHT2 组存在 19 个, 其中 5 个上调, 15 个下调($P < 0.05$)。结论 EH 患者血浆蛋白质组与正常血压者之间存在明显差异, 缬沙坦治疗可以缓解但不能完全恢复血浆蛋白质组的水平。

关键词:高血压; 蛋白质组; 抗高血压药; 心室重构

Plasma proteomic level in hypertensive patients before and after valsartan treatment

WANG Zuo-guang, PENG Xiao-yun, LI Mei, et al

(Beijing Institute of Heart, Lung, Blood Vessel Diseases, Affiliated Beijing Anzhen Hospital of Capital Medical University, Beijing 100029, China)

Abstract: Objective To study the different plasma proteomic levels in essential hypertension (EH) patients before and after valsartan treatment. **Methods** Twenty-one healthy normotensive subjects served as a normal control group, 21 untreated EH patients served as an EH group, 21 valsartan-treated EH patients with myocardial hypertrophy served as an EHT1 group and 21 valsartan-treated EH patients without myocardial hypertrophy served as an EHT2 group in this study. Protein samples were prepared by isolating plasma with high abundant protein removed. The plasma proteomic levels in different groups were analyzed by 2-dimensional electrophoresis in combination with matrix-aided laser desorption/ionization mass spectrometry and identified by Western blot. **Results** The plasma creatinine level was significantly higher in EH group and EHT1 group than in normal control group ($P < 0.05$). The systolic blood pressure was significantly higher in EH group, EHT1 group and EHT2 group than in normal control group ($P < 0.05$). The ST, PWT and LVMI were much better in EHT2 group than in EHT1 group ($P < 0.05$). The expression levels were higher in 16, 10, 9 protein spots and lower in 6, 2, 2 protein spots in EH group and EHT1 group than in normal control group, the expression level was lower in 6 protein spots in EHT1 group, higher in 1 protein spot and lower in 7 protein spots in EHT1 group than in EH group ($P < 0.05$). **Conclusion** The plasma proteomic level is significantly different in EH patients and normotensive subjects, which can be relieved but not completely recovered by valsartan.

Key words: hypertension; proteome; antihypertensive agents; ventricular remodeling

DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2014.04.003

基金项目: 国家自然科学基金(81370229, 81270216); 北京市自然科学基金(7102045, 7133232, 7120001)

作者单位: 100029 首都医科大学附属北京安贞医院 北京市心肺血管疾病研究所(王佐广, 李梅, 张蓓, 王丽娟, 刘洁琳, 刘雅, 魏永祥, 温绍君);

中国科学院西北高原生物研究所(彭晓云)

通信作者: 温绍君, E-mail: wenshaojun@aliyun.com.cn

原发性高血压(essential hypertension, EH)发病率非常高,在中国有近 2 亿患者。每年有数百万的人因 EH 及其并发症死亡和残疾^[1]。长久以来,对 EH 的治疗主要集中于对血压的控制。但是,人们逐渐认识到即使是长期良好的血压控制并不能完全防止 EH 所致的病死率和致残率。一些抗高血压药物如米诺地尔和胍屈嗪可以降低血压,但是,并不能防止左心室肥厚(left ventricular hypertrophy, LVH)和促进左心室重构的改善,而且会导致严重的后果^[2]。有一项涵盖 100 多个研究的荟萃分析显示,血压降低和 LVH 之间仅存在着一个中等强度的相关性^[3]。近来,另一项荟萃分析显示,经过缬沙坦治疗,长期和严格的血压控制只能防止 12.5% 的 LVH^[4]。大部分的 EH 患者尽管经过血管紧张素受体拮抗剂(angiotensin II receptors blockers, ARB)治疗后,血压已经得到良好的控制,但是 LVH 仍然存在。目前为止,其潜在的机制仍然不清楚。因此,我们将利用常用的蛋白质组学技术——二维电泳结合质谱分析技术^[5]。对健康正常血压者、EH 患者、以及合并 LVH 与未合并 LVH 的 EH 治疗患者进行血浆蛋白质组的分析,揭示沙坦类药物治疗 EH 前后血浆蛋白质组的变化及其特征,以期对 EH 的发病、诊断、治疗和并发症的防治提供一定的参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象 21 例健康正常血压者(NT 组)和 21 例 EH 患者(EH 组)在首都医科大学附属北京安贞医院健康体检中心筛选;21 例缬沙坦(代文,80 mg/粒,北京诺华制药有限公司)治疗伴有 LVH 的 EH 患者(EHT1 组)和 21 例缬沙坦治疗不伴有 LVH 的 EH 患者(EHT2 组)在首都医科大学附属北京安贞医院门诊筛选,时间为 2010 年 6 月~2012 年 8 月,各组之间进行配对。正常血压的定义为收缩压 < 120 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa),舒张压 < 80 mm Hg;高血压的定义为 140 mm Hg ≤ 收缩压 ≤ 159 mm Hg,90 mm Hg ≤ 舒张压 ≤ 99 mm Hg,其分类标准参考 JNC-7。EH 患者的定义为第一次明确为单纯的 EH 患者,而且未经任何治疗。EHT1 组和 EHT2 组从仅用缬沙坦(80~160 mg/d)治疗 40~60 周患者中选择^[6]。排除标准:(1)继发性高血压患者。(2)合并其他的相关疾病,如心肌病、糖尿病、免疫系统疾病和应激状态等。(3)体质量指数(BMI)在 30 kg/m² 以上或者 18.5 kg/m² 以下者。每个研究对象均进行了心脏超声检测 SONOS 4500

(Philips, Germany),探头为 2.0/2.5 MHz。LVH 的定义为左心室质量 > 134 g/m²(男性)和 > 110 g/m²(女性)^[7]。抽取静脉血 5 ml,收集无抗凝和乙二胺四乙酸抗凝血,1600 g 4℃离心 20 min,收集血清和血浆-80℃备用。本研究均经患者知情同意并经本单位伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 二维电泳 首先将血浆按照等比进行混合(将 3 份血浆混为 1 份),用白蛋白/IgG 去除试剂盒(Merck, Germany)去除血浆高丰度蛋白质。再用 Bradford 蛋白质定量试剂盒(北京天根生物)进行蛋白质定量。取 500 μg 蛋白质上样于 17 cm 固定 pH 梯度胶条上,pH 4~7(Bio-Rad, USA)共聚焦电泳,按照操作说明以 60 kVh 在 12℃条件下进行电泳。垂直电泳为先在 40 mA/胶的电压下电泳 20 min,然后在 60 mA/胶的条件下电泳,直至染料到达胶的底部。分离蛋白质的定量采用改良的银染法^[8]。染色后对图像进行扫描,使用 PDQUEST 7.2.0 2-D 图像分析系统(Bio-Rad, USA)进行分析。根据胶上的总蛋白质量对蛋白质点进行标化,并对不同胶上的蛋白质点进行匹配。同一组人群样本不同胶上的蛋白质点的匹配率为(81.62 ± 8.14)%,预示着实验系统的重复性良好^[5]。蛋白质点的灰度相差 2 倍以上者设定为差异显著,即切胶进一步分析。

1.2.2 质谱分析和蛋白质识别 按照质谱分析实验操作说明进行差异蛋白质点的切割和胰蛋白酶消化,消化的肽段经冷冻干燥后以 2 μl 基质溶液进行溶解。加入 0.7 μl 至基质辅助激光解析/电离(MALDI)样品盘中进行检测,所用仪器为 MALDI 飞行时间质谱(TOF/TOF)仪(4700 Proteomics Analyzer, Applied Biosystems, 美国)。在进行正式样品检测前,使用 6 个校正点进行信号和参数的校正。肽指纹图谱所检测的范围为 800~4000,使用 ca. 3000 激光束。为了获得 < 25 × 10⁻⁶ 的质谱精确度,用胰蛋白酶的自溶峰作为内对照。在排除基质、背景、聚丙烯酰胺或角蛋白峰后,最多利用五个最强的峰进行随后的二级质谱数据收集。应用 MASCOT 搜索引擎(MASCOT Science)对美国国立生物技术信息中心蛋白质数据库进行搜索对比,根据全球蛋白服务器工作站,对于质谱以及二级质谱可信值 > 95% 时才认为有意义。并进一步应用专家蛋白质分析系统数据库进行验证。

1.2.3 蛋白质印迹法检测 将 40 μg 蛋白质溶解于十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳缓冲液中,蛋白质上样于 12% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺

凝胶中进行电泳。将分离后的蛋白质转移到尼龙膜上。尼龙膜先用 5% 的脱脂牛奶进行封阻, 然后按照说明加入相应的一抗(购自 Chemi-Con international Co, CA)杂交 2 h。然后用 Tris 缓冲液进行充分清洗, 再与过氧化物酶标记的二级抗体进行孵育。最后使用化学发光试剂盒进行显色反应, 用 β 肌动蛋白(β -actin)作内对照。

1.3 统计学方法 使用 SPSS 17.0 统计软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间比较采用 *t* 检验。多组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组临床基础资料比较 4 组在年龄、性别、BMI、血脂和血糖比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 NT 组比较, EH 组和 EHT1 组的血肌酐显著升高 ($P < 0.05$), EH 组、EHT1 组和 EHT2 组的收缩压显著升高 ($P < 0.05$); 与 EH 组比较, EHT1 组和 EHT2 组收缩压显著降低 ($P < 0.05$);

EHT1 组与 EHT2 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 1)。

2.2 4 组心脏超声检查比较 与 NT 组比较, EH 组和 EHT1 组的 ST、PWT、LVMI 明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 EH 组比较, EHT1 组和 EHT2 组的 E/A 明显改善 ($P < 0.05$); 与 EHT1 组比较, EHT2 组的 ST、PWT、LVMI 显著改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。4 组心率、LVEDD、E 峰、A 峰、LVEF、SV 和 CO 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 2)。

2.3 血浆蛋白质差异表达比较 研究中共分离的蛋白质点为 (700 \pm 44) 个共涉及六大类(表 3)。与 NT 组比较, EH 组血浆中存在 22 个差异表达的蛋白质点, 其中 16 个表达量上调, 6 个下调; EHT1 组存在 12 个, 其中 10 个上调, 2 个下调; EHT2 组存在 11 个, 9 个上调, 2 个下调。与 EH 组比较, EHT1 组存在 17 个差异表达的蛋白质点, 其中 4 个上调, 13 个下调; EHT2 组存在 20 个差异表达的蛋

表 1 4 组临床基本资料比较

项目	NT 组(21 例)	EH 组(21 例)	EHT1 组(21 例)	EHT2 组(21 例)
男/女(例数)	11/10	11/10	11/10	11/10
年龄(岁)	74.61 \pm 13.06	76.25 \pm 10.27	75.31 \pm 12.54	74.35 \pm 12.33
BMI(kg/m ²)	24.53 \pm 2.31	26.44 \pm 3.56	26.05 \pm 3.78	25.83 \pm 4.09
血糖(mmol/L)	5.65 \pm 1.12	6.03 \pm 0.74	5.64 \pm 0.64	5.96 \pm 0.88
TG(mmol/L)	1.34 \pm 0.25	1.56 \pm 0.33	1.43 \pm 0.27	1.47 \pm 0.23
TC(mmol/L)	4.37 \pm 0.80	4.97 \pm 0.49	4.69 \pm 0.58	4.86 \pm 0.61
HDL-C(mmol/L)	1.21 \pm 0.20	1.26 \pm 0.32	1.28 \pm 0.22	1.24 \pm 0.32
LDL-C(mmol/L)	2.29 \pm 0.45	2.43 \pm 0.39	2.35 \pm 0.36	2.35 \pm 0.29
肌酐(mmol/L)	0.86 \pm 0.19	1.01 \pm 0.17 ^a	0.97 \pm 0.14 ^a	0.94 \pm 0.08
尿素(mmol/L)	75.22 \pm 12.46	81.24 \pm 19.09	81.04 \pm 21.21	77.19 \pm 19.36
收缩压(mm Hg)	116.51 \pm 12.15	149.00 \pm 8.55 ^b	130.00 \pm 7.39 ^{ac}	127.00 \pm 6.25 ^{ac}
舒张压(mm Hg)	79.43 \pm 6.18	82.35 \pm 6.49 ^b	83.26 \pm 4.20	81.26 \pm 3.14

注: 与 NT 组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与 EH 组比较, ^c $P < 0.05$

表 2 4 组心脏超声检查比较($\bar{x} \pm s$)

项目	NT 组(21 例)	EH 组(21 例)	EHT1 组(21 例)	EHT2 组(21 例)
心率(/min)	72.36 \pm 7.21	77.36 \pm 7.27	76.43 \pm 5.13	73.51 \pm 5.63
LVEDD(mm)	42.92 \pm 5.77	47.53 \pm 4.42	46.95 \pm 3.71	43.89 \pm 4.68
ST(mm)	10.13 \pm 1.02	14.32 \pm 0.54 ^b	14.01 \pm 0.29 ^b	10.92 \pm 0.37 ^{ce}
PWT(mm)	9.78 \pm 1.26	13.48 \pm 0.93 ^b	13.52 \pm 0.79 ^b	10.81 \pm 0.75 ^{ce}
LVMI(g/m ²)	90.07 \pm 5.25	152.06 \pm 16.31 ^b	146.28 \pm 12.26 ^b	94.53 \pm 15.30 ^{df}
E 峰(m/s)	0.78 \pm 0.12	0.67 \pm 0.11	0.77 \pm 0.18	0.80 \pm 0.15
A 峰(m/s)	0.65 \pm 0.17	0.73 \pm 0.14	0.70 \pm 0.13	0.68 \pm 0.14
E/A	1.02 \pm 0.11	0.82 \pm 0.21 ^a	1.24 \pm 0.22 ^{ad}	1.25 \pm 0.17 ^{ad}
LVEF(%)	67.85 \pm 5.34	64.40 \pm 5.60	65.60 \pm 6.00	65.00 \pm 6.10
SV(ml)	76.30 \pm 8.61	83.28 \pm 11.03	83.15 \pm 10.02	78.44 \pm 10.56
CO(L/min)	5.68 \pm 1.02	6.46 \pm 1.08	6.28 \pm 1.12	6.22 \pm 1.19

注: 与 NT 组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与 EH 组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与 EHT1 组比较, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$; LVEDD=左心室舒张末内径; ST=室间隔厚度; PWT=左心室后壁厚度; LVMI=左心室质量指数; E 峰=二尖瓣舒张早期血流峰值; A 峰=二尖瓣舒张晚期血流峰值; SV=每搏输出量; CO=心输出量

表 3 差异表达蛋白质分子生物学特征及其含量改变

蛋白质名称	蛋白质点	SWISS-PROT 编号	肽指纹图谱			差异蛋白质改变倍数(21 例)		
			匹配肽 (段数)	序列覆盖率 (%)	积分 (分)	EH 组/NT 组	EHT1 组/NT 组	EHT2 组/NT 组
炎症及免疫								
触珠蛋白- α -2 链	1	P00738	16	68	118	3.07 \pm 0.42	2.81 \pm 0.43	2.23 \pm 0.17 ^{bc}
触珠蛋白- β -链	2	P00738	8	42	76	7.48 \pm 3.26	5.22 \pm 2.02 ^b	4.65 \pm 1.05 ^{bc}
触珠蛋白- β -链	3	P00738	15	60	122	5.16 \pm 4.12	4.28 \pm 1.18 ^a	2.94 \pm 0.69 ^{bd}
触珠蛋白- β -链	4	P00738	7	40	105	4.44 \pm 0.38	3.63 \pm 1.33 ^b	3.11 \pm 1.86 ^{bc}
免疫球蛋白重链 mu	5	P99001	12	28	82	6.28 \pm 0.35	5.48 \pm 2.37 ^a	4.45 \pm 1.87 ^{bd}
补体 C4-B α -链	6	P01028	8	46	79	2.29 \pm 0.26	1.21 \pm 0.14 ^a	1.09 \pm 0.05 ^{bc}
α 1- β 糖蛋白	7	P04217	6	23	68	0.51 \pm 0.14	0.44 \pm 0.19 ^a	0.49 \pm 0.06 ^c
脂质代谢								
apoA-I	8	P02647	23	77	238	2.74 \pm 0.23	2.56 \pm 0.22	2.47 \pm 0.75
apoA-IV	9	P06727	7	34	85	2.53 \pm 0.36	1.25 \pm 0.11	0.97 \pm 0.04 ^b
凝聚素	10	P10909	7	46	78	2.47 \pm 0.52	0.95 \pm 0.06	1.18 \pm 0.32
apo	11	P99004	10	53	96	4.65 \pm 0.44	3.24 \pm 0.71 ^b	2.98 \pm 0.85 ^{bd}
物质转运								
转甲状腺素蛋白	12	P02766	13	80	278	2.98 \pm 0.24	2.77 \pm 0.25	2.44 \pm 0.79 ^{ac}
转铁蛋白	13	P02787	21	31	83	4.95 \pm 0.27	4.56 \pm 1.53	3.52 \pm 1.04 ^{bd}
凝血与纤溶								
纤溶酶原	14	P00747	6	10	41	3.26 \pm 0.15	1.13 \pm 0.21 ^b	1.02 \pm 0.08 ^{bc}
纤维蛋白原 β -链	15	P02675	15	58	223	2.59 \pm 0.21	1.54 \pm 0.48 ^b	1.27 \pm 0.27 ^{bc}
细胞增殖和凋亡								
凝溶胶蛋白	16	P06396	6	26	79	0.18 \pm 0.04	0.96 \pm 0.15 ^b	1.01 \pm 0.20 ^b
锌- α 糖蛋白	17	P25311	6	37	99	0.36 \pm 0.08	0.38 \pm 0.11	0.45 \pm 0.02 ^{bc}
胎球蛋白 A	18	P02765	7	24	85	0.08 \pm 0.01	0.92 \pm 0.18 ^b	0.96 \pm 0.25 ^b
富组氨酸糖蛋白	19	P04196	5	11	51	0.13 \pm 0.03	1.09 \pm 0.07 ^b	0.97 \pm 0.12 ^b
抗氧化								
对氧磷酶	20	P27169	6	28	86	0.36 \pm 0.10	0.88 \pm 0.09 ^b	0.93 \pm 0.19 ^b
其他								
富亮氨酸- α 2-糖蛋白	21	P02750	6	31	95	3.25 \pm 0.20	2.39 \pm 0.84 ^b	1.43 \pm 0.41 ^{bd}
未定义序列	22	gi 17906203	5	16	82	5.46 \pm 0.78	1.76 \pm 0.44 ^b	1.35 \pm 0.57 ^{bc}

注:与 EH 组/NT 组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与 EHT1 组/NT 组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$;apo=载脂蛋白

蛋白质点,其中 5 个上调,15 个下调。与 EHT1 组比较,EHT2 组存在 17 个差异表达的蛋白质点,其中 3 个上调,14 个下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。蛋白质点 8 在质谱中识别为 apoA-I,是一种脂质代谢的重要蛋白质(图 1~2)。

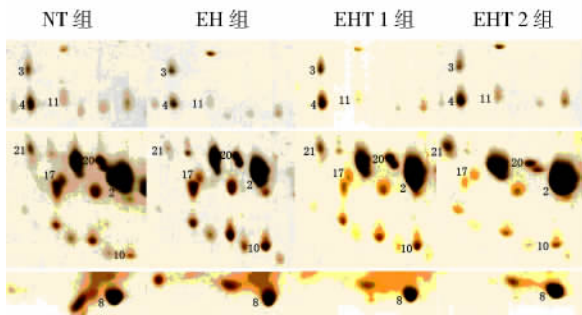


图 1 差异表达蛋白质的二维电泳图

2.4 4 组 apoA-I 的表达比较 与 NT 组比较,EH 组的 apoA-I 含量相对值为 2.8,EHT1 组为 2.56,EHT2 组为 2.5,均明显升高,差异有统计学意义

($P < 0.01$);但是 EH 组、EHT1 组和 EHT2 组之间无显著差异($P > 0.05$,图 2)。

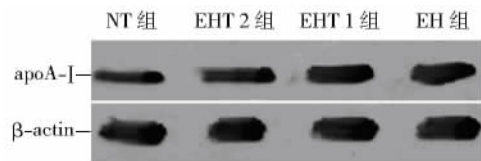


图 2 蛋白质点 8(apoA-I)的 Western blot 分析

3 讨论

EH 的发病涉及到多种血压调节因子的异常,目前,已经发现了至少有 100 种相关的基因和蛋白质^[9]。由于这些因子可能会参与血压的维持和升高,以及靶器官损害,因而多年来相关的蛋白质因子不断成为临床应用中重要的检测指标^[10-11]。由于每个 EH 患者有不同的高血压相关蛋白质表达背景和表达水平,传统的单个和数个指标的检测对于临床而言费时费力,近年来新建立的蛋白质组学研究方

法可以为多因素多基因疾病的研究提供技术支持^[5]。本研究发现了 22 个差异表达的蛋白质点,涉及 18 个蛋白质。这些差异表达的蛋白质都与 EH 的发病和并发症相关,具有潜在的巨大的临床应用价值^[12]。众所周知,EH 是一种多因素多基因疾病,其发病涉及到多种血压调节蛋白质的异常^[13]。本研究中,NT 组患者较 EH 患者具有明显的蛋白质异常表达。而这些差异表达的蛋白质恰好是多年来经过验证的对 EH 发病和并发症具有重要作用的蛋白质。这些机制涉及到慢性炎症反应、血脂异常、内皮功能障碍、氧化应激和细胞增殖等。而损伤蛋白的增加和保护性蛋白的下降,从蛋白质组学的角度更进一步支持 EH 是一种多因素多基因疾病,这与目前所认识到的 EH 是完全一致的^[5,14]。而经过抗高血压治疗后部分异常表达蛋白的恢复则从另一方面支持了这一结论。

LVH 是 EH 患者一种常见心室重构的表现,研究发现,即使用目前认为最好的 ARB 也同样存在着这样的问题^[15]。在本研究中,我们发现尽管血压得到了很好的控制,但是 EHT1 组患者还是存在着 LVH,其原因是 EH 是一种多因素、多基因疾病,而 ARB 并不能阻断导致 LVH 的所有危险因素和异常机制。同时也说明了除肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)外,可能还存在着其他会刺激 LVH 的因子,如内皮素、肿瘤坏死因子、E 选择素、活性氧因子等并没有被 ARB 的治疗中止。而我们在 EH 组和 EHT1 组患者血浆中检测发现的差异表达与炎症、脂质代谢、内皮功能相关因子和氧化应激相关因子也从侧面提示了这种可能性。由于缬沙坦并不能完全防止这些因子的损伤作用,因而 LVH 的形成也是一种必然的结果。在 EHT2 组,尽管血压也得到了很好的控制,这些患者也有比较高的炎症因子和转运蛋白水平,但与 EHT 组比较,改变的更明显。缬沙坦治疗在 EHT2 组有效地纠正了大部分的异常改变,其结果是患者的 LVH 得到了较好的控制,这可能与此类患者血压的异常主要与 RAAS 相关。但是其他与 EH 相关的因素如遗传倾向、交感神经系统活性异常、脂质过氧化、生长激素、甲状旁腺素和胰岛素等,这些因素的异常仍然可能直接或间接导致血压升高和 LVH 的发生,但是却不受缬沙坦的影响^[16]。因此,EHT2 组的蛋白质组学异常同样可能会导致一些相关的不良后果。

一些异常的炎症蛋白,如触珠蛋白,在血压和 LVH 控制较好的 EHT2 组并没有完全的降低,这表明该组患者存在着持续的炎症状态,而后者可能

会导致动脉硬化的出现^[17]。尽管抗高血压治疗可以降低触珠蛋白,但是炎症并没有得到完全的控制,因此,一些可能会导致炎症的因子仍然存在。这些差异表达的蛋白质如同在心脏中差异表达的蛋白质一样,可以为 EH 和 LVH 的预防和治疗提供一定的参考^[18]。除损伤相关的蛋白质以外,其他一些蛋白质在 EH 的形成和发展过程也具有重要的作用。如凝溶胶蛋白是一种保护性蛋白质,尤其是在细胞运动、细胞生长控制、凋亡和组织损伤方面具有重要作用^[19]。锌- α 糖蛋白可以抑制细胞增殖;胎球蛋白 A 可以抑制血管钙化;而富组氨酸糖蛋白在调节内环境稳定、先天性免疫、抗凝和抗纤溶方面有重要的调节作用^[20-21]。本研究结果显示,这 4 种相关蛋白质在 EH 组均出现了明显的下降,这可能导致血管损伤而引起血压的增高。尤其要注意的是,除锌- α 糖蛋白在 EHT2 组明显高于 EH 组和 EHT1 组外,其他的 3 种蛋白质则在 EH、EHT1 和 EHT2 组间无显著差异。一种可能的解释是缬沙坦的治疗改善了这种蛋白质在血浆中的水平,从而防止了动脉硬化的出现以及血压进一步升高。富亮氨酸- α 2 糖蛋白(LRG)是一种与肿瘤相关的蛋白质,近来的研究发现,它可以作为一种检测自身免疫性疾病的标记物^[22]。但是为什么 LRG 在 EHT1 组中下降而在 EHT2 组中几乎完全恢复正常则不得而知。这可能需要进行进一步的研究。

血压升高通常是由多种原因引起,但是目前的多种抗高血压治疗药物只是针对一种或几种原因。因此,目前的抗高血压治疗方案并不纠正血浆中所有异常表达的血压调控蛋白。在本研究中,经过缬沙坦治疗的 EH 组患者尽管血压已经得到了良好的控制,但是血压相关蛋白质的异常表达并没有完全恢复,只是出现了某种程度的缓解。这与那种认为降压治疗只是降低了血压和调节一些药物相关的因子,并没有真正针对某个(类)患者的真正病因^[14]。EHT1 组和 EHT2 组血浆中的许多蛋白质水平仍然处于非正常范围。也就是说,血压虽然已经得到控制,但是血浆中可以促使血压升高的蛋白因子和血压并没有完全阻断。也许,这正是为什么降压药物一旦停止,血压会快速增高;而高血压并不能经过一次治疗而完全治愈。这提示我们,高血压的治疗应该重视和针对患者发病的主要危险因素和个体化病因,即个体化的诊断和治疗^[23-24]。这样才有可能达到既控制血压又防止靶器官损伤。

根据在 EH 发病中的作用,EH 患者血浆中变化的活性因子可以分为如下五类:(1)直接促进血压

升高的因子。(2)直接抑制血压升高的因子。(3)血压变化后机体代偿出现的对血压具有调节作用的因子(如心钠素)^[25]。(4)继发于机体的代偿因素的因子,可能对血压调节具有一定的作用(如高血压患者血浆中升高的心钠素水解酶)。(5)继发性因子,但与 EH 发病无关(如内啡肽)^[13]。如果对这 5 种因素在 EH 的诊断、治疗和预防中加以区分,可以进一步促进 EH 的基础和临床研究。但是,令人遗憾的是目前对 EH 相关的因子还没有进行准确的区分,只是笼统地称之为高血压相关因素。

本研究显示,NT 组血浆蛋白组水平与 EH 组明显不同。用缬沙坦进行抗高血压治疗后可以部分地缓解 EH 组血浆中的蛋白质组异常。尽管血压已经得到了很好的控制,血浆中的蛋白质组水平无论是有 LVH 还是无 LVH,均未得到完全恢复,这意味着靶器官损伤并未能得到完全中止。本研究可以为高血压患者的个体化病因的查找、个体化诊断和治疗提供参考。但是,由于病例数较少和研究方法的分辨率较低,因此,还需要进一步的深入研究。

参考文献

- [1] Kearney PM,Whelton M,Reynolds K,et al. Global burden of hypertension:analysis of worldwide data. *Lancet*,2005,365:217-223.
- [2] Stevens SM,Reinier K,Chugh SS. Increased left ventricular mass as a predictor of sudden cardiac death:is it time to put it to the test? *Circ Arrhythm Electrophysiol*,2013,6:212-217.
- [3] Diamond JA,Phillips RA. Hypertensive heart disease. *Hypertens Res*,2005,28:191-202.
- [4] Fagard RH,Celis H,Thijs L,et al. Regression of left ventricular mass by antihypertensive treatment: a meta-analysis of randomized comparative studies. *Hypertension*,2009,54:1084-1091.
- [5] Wang Z,Peng X,Tao Y,et al. Is prehypertension really different from normotension and hypertension? A case-control pilot proteomic study in Chinese. *Clin Exp Hypertens*,2009,31:316-329.
- [6] Nakayama K,Kuwabara Y,Daimon M,et al. Valsartan amlodipine randomized trial (VART): design, methods, and preliminary results. *Hypertens Res*,2008,31:21-28.
- [7] Grandi AM,Laurita E,Marchesi C,et al. Family history of hypertension influences left ventricular diastolic function during chronic antihypertensive therapy. *AJH*,2007,20:410-415.
- [8] Angeloni C,Turroni S,Bianchi L,et al. Novel targets of sulforaphane in primary cardiomyocytes identified by proteomic analysis. *PLoS One*,2013,8:e83283.
- [9] McBride MW,Graham D,Delles C,et al. Functional genomics in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*,2006,15:145-151.
- [10] Navarro-González JF,Mora C,Muros M,et al. Association of tumor necrosis factor- α with early target organ damage in newly diagnosed patients with essential hypertension. *J Hypertens*,2008,26:2168-2175.
- [11] Kavey RE. Left ventricular hypertrophy in hypertensive children and adolescents: predictors and prevalence. *Curr Hypertens Rep*,2013,15:453-457.
- [12] Paravicini TM,Touyz RM. Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res*,2006,71:247-258.
- [13] 王佐广,彭晓云. 原发性高血压发病机制的四维模式. 北京:科学技术文献出版社,2012. 148-157.
- [14] Wang Z,Peng X,Wei Y,et al. Neglect of several important indexes during the study of human essential hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*,2013,15:769-771.
- [15] Alvarez-Llamas G,de la Cuesta F,Barderas ME,et al. Recent advances in atherosclerosis-based proteomics: new biomarkers and a future perspective. *Expert Rev Proteomics*,2008,5:679-691.
- [16] Cohuet G,Struijker-Boudier H. Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: therapeutic potential. *Pharmacol Ther*,2006,111:81-98.
- [17] Jekell A,Malmqvist K,Wallén NH,et al. Markers of inflammation,endothelial activation,and arterial stiffness in hypertensive heart disease and the effects of treatment: results from the SILVHIA study. *J Cardiovasc Pharmacol*,2013,62:559-566.
- [18] Gallego-Delgado J,Lazaro A,Osende JI,et al. Comparison of the protein profile of established and regressed hypertension-induced left ventricular hypertrophy. *J Proteome Res*,2006,5:404-413.
- [19] Carro E. Gelsolin as therapeutic target in Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets*,2010,14:585-592.
- [20] Bilgir O,Kebapcilar L,Bilgir F,et al. Decreased serum fetuin-A levels are associated with coronary artery diseases. *Intern Med*,2010,49:1281-1285.
- [21] Wakabayashi S. New insights into the functions of histidine-rich glycoprotein. *Int Rev Cell Mol Biol*,2013,304:467-493.
- [22] Serada S,Fujimoto M,Ogata A,et al. iTRAQ-based proteomic identification of leucine-rich alpha-2 glycoprotein as a novel inflammatory biomarker in autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis*,2010,69:770-774.
- [23] Myers JE,Tuytten R,Thomas G,et al. Integrated proteomics pipeline yields novel biomarkers for predicting preeclampsia. *Hypertension*,2013,61:1281-1288.
- [24] Bochud M,Guessous I. Gene-environment interactions of selected pharmacogenes in arterial hypertension. *Expert Rev Clin Pharmacol*,2012,5:677-686.
- [25] Hu G,Xu X,Liang X,et al. Associations of plasma atrial natriuretic peptide and electrolyte levels with essential hypertension. *Exp Ther Med*,2013,5:1439-1443.

(收稿日期:2013-12-25)

(本文编辑:顾菊芳)