

李淑敏,蒋海强,齐冬梅,等. 基于代谢组学技术筛选与血压升高相关的差异性代谢物 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (6): 23-30.

Li SM, Jiang HQ, Qi DM, et al. Screening of differential metabolites related to elevated blood pressure according to metabolomics technology [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(6): 23-30.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.06.004

基于代谢组学技术筛选与血压升高相关的差异性代谢物

李淑敏¹, 蒋海强^{2,4,5}, 齐冬梅^{3,4,5*}, 杨雯晴^{2,5*}

(1. 山东中医药大学, 中医学院, 济南 250355; 2. 山东中医药大学, 中医药创新研究院, 济南 250355;
3. 山东中医药大学, 实验中心, 济南 250355; 4. 山东省中医药基础研究重点实验室, 济南 250355;
5. 教育部中医药经典理论重点实验室, 济南 250355)

【摘要】 目的 探讨与自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR) 血压升高相关的潜在差异性代谢物及代谢通路。**方法** 采用非靶向代谢组学技术, 研究 5、7、9 周龄的 SHR 与正常组血清代谢物的变化并筛选出不同周龄中共同存在的代谢物, 结合 SIMCA-P 软件进行代谢组学数据与血压的相关性分析, 发现其对血压升高的影响, 利用 MetaboAnalyst 平台对相关代谢物进行通路分析, 发现与血压变化相关的通路。**结果** 经数据库查询鉴定出 10 个同时存在于不同周龄的差异性代谢物, 分别是: 胆碱、花生四烯酸、二十二碳六烯酸、血栓烷 B₂、尿酸、16-羟基十六烷酸、十二烷二酸、胆酸、12(13)-DiHOME、牛磺鹅去氧胆酸。7 周时血栓烷 B₂ 与血压正相关, 二十二碳六烯酸、尿酸、十二烷二酸、胆酸、花生四烯酸与血压呈负相关; 9 周时十二烷二酸、二十二碳六烯酸、胆酸与血压呈正相关, 血栓烷 B₂、尿酸、花生四烯酸与血压呈负相关。花生四烯酸通路是高血压中血压升高的主要影响通路。**结论** 以花生四烯酸为主的脂质代谢通路是高血压发生发展的主要影响通路, 从整体来看二十二碳六烯酸、胆汁酸发挥一定的降压作用, 尿酸促进了血压的升高, 而血栓烷 B₂、花生四烯酸在血压升高过程中与血压的相关性尚不统一, 但对血压的升高有重要影响。

【关键词】 高血压; 代谢组学; 相关性分析

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 06-0023-08

Screening of differential metabolites related to elevated blood pressure according to metabolomics technology

LI Shumin¹, JIANG Haiqiang^{2,4,5}, QI Dongmei^{3,4,5*}, YANG Wenqing^{2,5*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, School of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China.
2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Traditional Chinese Medicine Innovation, Jinan 250355. 3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Experimental Center, Jinan 250355.
4. Shandong Province Key Laboratory of Basic Research of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355.
5. Key Laboratory of Classical Theory of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jinan 250355)

【Abstract】 Objective To explore the potential differential metabolites related to blood pressure changes in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods** We applied non-targeted metabolomics technology to study the differences in serum metabolites between SHR and normal groups at 5, 7 and 9 weeks of age, screening out metabolites that co-existed in rats of different ages. We then used SIMCA-P software to analyze the correlation between the metabolomics

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81974555)。

【作者简介】 李淑敏(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 方剂的组分配伍与作用机制研究。E-mail: 878954819@qq.com

【通信作者】 齐冬梅(1965—), 女, 教授, 研究方向: 方剂的组分配伍与作用机制研究。E-mail: Dongmei.Qi@hotmail.com

杨雯晴(1987—), 女, 副教授, 研究方向: 中医药治疗心血管疾病的研究。E-mail: winnie0416q@163.com * 共同通信作者

data and blood pressure and to discover its impact on blood pressure elevation. Finally, we used the MetaboAnalyst platform to conduct a pathway analysis of related metabolites and to identify the related pathways that cause blood pressure changes.

Results Through database query, the following 10 differential metabolites that were present at different ages were identified: choline, arachidonic acid, docosahexaenoic acid, thromboxane B₂, uric acid, 16-hydroxyhexadecanoic acid, dodecanedioic acid, cholic acid, 12(13)-DiHOME, and taurochenodeoxycholic acid. At 7 weeks of age, thromboxane B₂ was positively correlated with blood pressure, while docosahexaenoic acid, uric acid, dodecanedioic acid, cholic acid, and arachidonic acid were negatively correlated with blood pressure; at 9 weeks, docosahexaenoic acid, dodecanedioic acid and bile acids were positively correlated with blood pressure, while thromboxane B₂, uric acid, and arachidonic acid were negatively correlated with blood pressure. **Conclusions** The arachidonic acid pathway is the main influencing pathway for the occurrence of hypertension. From overall view, docosahexaenoic acid and bile acids have a certain antihypertensive effect. Uric acid promotes the increase of blood pressure, while the correlation of thromboxane B₂ and arachidonic acid with blood pressure is not uniform in the process of blood pressure increase, but they have important effects on the increase of blood pressure.

【**Keywords**】 hypertension; metabolomics; correlation analysis

高血压是全球性危害较大的心血管疾病,也是引起心脏、肾等器官损害等的主要因素,具有较高的发病率和致死率^[1],而在发展中国家对血压的控制并不理想^[2]。近年来 SHR 血清的代谢组学研究发现在高血压病理状态下存在多种代谢紊乱,如脂质代谢(甘油磷脂、鞘磷脂和花生四烯酸)、氨基酸(色氨酸、酪氨酸)、三羧酸循环、尿素代谢、5-羟色胺突触传导通路等^[3-5]。

针对代谢紊乱的研究,代谢组学是近二十年来发展的系统生物学方法,旨在识别生物系统内源性代谢物在内在外在因素影响下的变化,通过非靶向、半靶向及靶向方式揭示人体在生理病理状态下的整体的、动态的代谢变化,是医学药学研究的重要手段^[6-7]。为进一步筛选在血压升高过程中与血压变化相关联的代谢物,本研究采用非靶向代谢组学技术,将筛选出处于血压升高阶段的不同周龄 SHR 大鼠与正常组大鼠的差异代谢物与血压值进行相关性分析,从而阐明高血压发病过程中的代谢模式和代谢标志物变化,以期为高血压的防治提供指导。

1 材料和方法

1.1 实验动物

24 只 4 周龄 SPF 级雄性 Wistar 京都种大鼠(Wistar-Kyoto rats, WKY)分为 3 个正常组(C1、C2、C3)和 24 只 4 周龄 SPF 级雄性 SHR 分为 3 个模型组(M1、M2、M3)每组均为 8 只,WKY 大鼠体重约 45~60 g,SHR 体重约 40~55 g,购自北京维通利华实验动物科技有限公司[SCXK(京)2021-0006],所有大鼠喂以标准饲料,饲养在山东中医药大学实验

中心[SYXK(鲁)2017 0022]SPF 设施中,温度为(23±1)℃,相对湿度环境为 55%±5%,标准的 12 h/12 h(光/暗)循环,每笼 4 只,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。实验方案及过程经山东中医药大学实验动物中心动物伦理委员会批准(SDUTCM20201019003)。

1.2 主要试剂与仪器

乙腈、甲醇、甲酸(批号:190268、172071、186935,色谱级,美国 Fisher 公司);超纯水(屈臣氏,屈臣氏(中国有限公司));2-氯-L-苯丙氨酸(批号:C10007806,MACCLIN,上海麦克林生化科技有限公司)。

智能无创血压计(BP-2010A, Softron, 北京, 中国);高速台式离心机,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;Vortex-Genie2 型涡旋震荡器,美国 SI 公司;静电场轨道阱质谱仪(QE)和 Ultimate 3000 UPLC 系统(Thermo Fisher, CA, USA);Halo-C18 色谱柱(2.1×100 mm, 2.7 μm; AMT, 美国)。

1.3 实验方法

1.3.1 血压测量

采用无创套尾法检测大鼠安静状态下的血压,打开电源,选取安静、无人、温暖的环境,将温度调至 38℃,敏感度设置为 2,预热 5 min,控制测定时笼内温度保持不变,将大鼠前半身用鼠网网住并置入保温筒中,配合鼠袋包裹住,暴露尾巴在鼠袋外,将尾部穿过加压感应装置,加压感应器标志的尖端与鼠尾尖端方向保持一致,将加压感应器置于大鼠尾根处,待大鼠稳定 5~10 min 后,点击血压测定,图像波动平稳时记录数据,每周同一时间测量血压 3 次取平均值。

1.3.2 血清非靶向代谢组学分析

(1) 样本准备

5 周龄时取 C1、M1 组,7 周龄时取 C2、M2 组,9 周龄时取 C3、M3 组,按照 30 mg/kg 剂量的腹腔注射 1.5% 戊巴比妥钠麻醉后采集腹主动脉血。将血样置于 Eppendorf 管中,室温凝固 30 min,离心 (4500 r/min, 4℃) 15 min,得到血清样品。将血清样品储存在 -80℃ 直至下次检测。

血清样品在冰上 4℃ 解冻,加入 400 μ L 预冷甲醇,涡旋 1 min,以 2-氯-L-苯丙氨酸 (60 μ g/mL) 作为内标,取 100 μ L 血清样品。将混合物在 4℃ 下以 15 000 r/min 的速度离心 15 min。将上清液 (400 μ L) 置于 2 mL Eppendorf 管中,用氮气吹干,然后加入 100 μ L 初始流动相重新溶解。随后,将上清液转移到 LC-MS 小瓶中。为确保代谢分析的数据质量,通过混合来自每个样品的 5 μ L 上清液制备混合质量控制样品 (quality control, QC)。

(2) 血清非靶向代谢组学分析

使用 UltiMate3000 超高效液相色谱仪和四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱联合分析。应用 Halo-C18 色谱柱进行分析,柱温:45℃,进样量:10 μ L。流动相由溶剂 A (0.05% 甲酸水溶液) 和溶剂 B (0.05% 甲酸乙腈溶液) 组成。线性梯度程序如下:0 min, 2% B; 3 min, 40% B; 9 min, 98% B; 18 min, 98% B; 18.1 min, 2% B; 3.0 min 的平衡。流速为 0.3 mL/min。运行样品前,运行 6 个 QC 样品以平衡仪器,然后每运行 6 个样品后运行 1 个 QC 样品。质谱条件:毛细管温度 350℃;正离子模式和负离子模式毛细管电压:3.5 kV 和 3.5 kV;鞘气 45 arb;辅助气 10 arb;质量扫描范围:80~1200 Da;质量分辨率:70000;S-Lens RF Level 为 55。

(3) 血清非靶向代谢组学数据处理

LC-MS 色谱数据的整体分析通过使用 CD3.1 (Compound Discoverer, Thermo Fisher, CA, USA) 软件对数据进行预处理,包括峰值检测、峰值对齐和数据清洗,从 CD 中筛选出各周龄中 $P < 0.05$ 的差异性代谢物,通过 SIMCA-P (13.0 版;Umetrics, Umea, 瑞典) 对不同周龄的正常组和模型组分别采用无监督的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 及有监督的偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 以寻找正常组与模型组之间及不同周龄的模型组间的差异,对数据进行 100 次随机排列实验,根据 R2 和 Q2 检验数

学模型建立的准确性。筛选投影变量重要性 (Projected Variable Importance, VIP) > 1 的变量为潜在生物标记物。通过 MS/MS、HMDB 数据库 (<http://www.hmdb.ca/>) 和 KEGG (<https://www.kegg.jp/>) 分析鉴定内源性代谢物的鉴定和确认的代谢物。

使用 MetaboAnalyst 5.0 软件^[8] (<http://www.metaboanalyst.ca>) 进行通路分析。Coefficients 是代谢表征与小分子代谢物相关联程度,将血压值设置为 Y 变量与非靶向代谢数据相关联,通过 Coefficients 值筛选差异代谢物与血压变化的相关性。原始数据经过 CD 软件数据处理后可得到具体的生物标志物,包含 mass 值、保留时间、相对峰面积在内的数据矩阵,将同周龄的正常组模型组分析后与不同周龄相比较,观察不同周龄相对峰面积的变化趋势。

1.4 统计学方法

计量资料表示为平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 统计学采用 t 检验比较两组数据, $P < 0.05$ 为有差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 不同周龄下大鼠血压的变化

由表 1 发现与正常组相比,模型组各周龄的收缩压与舒张压在五周龄时具有显著差异性,且随着周龄的增大模型组血压显著升高尤以收缩压变化最为明显,而正常组各周龄之间的收缩压变化无明显差异性。

2.2 血清代谢组学结果

2.2.1 代谢组学图谱

在各周龄正、负离子模式下正常组与模型组的总离子流图有一定的差异,以 5 周龄正常组与模型组大鼠为例说明两组之间存在不同的代谢物 (图 1)。

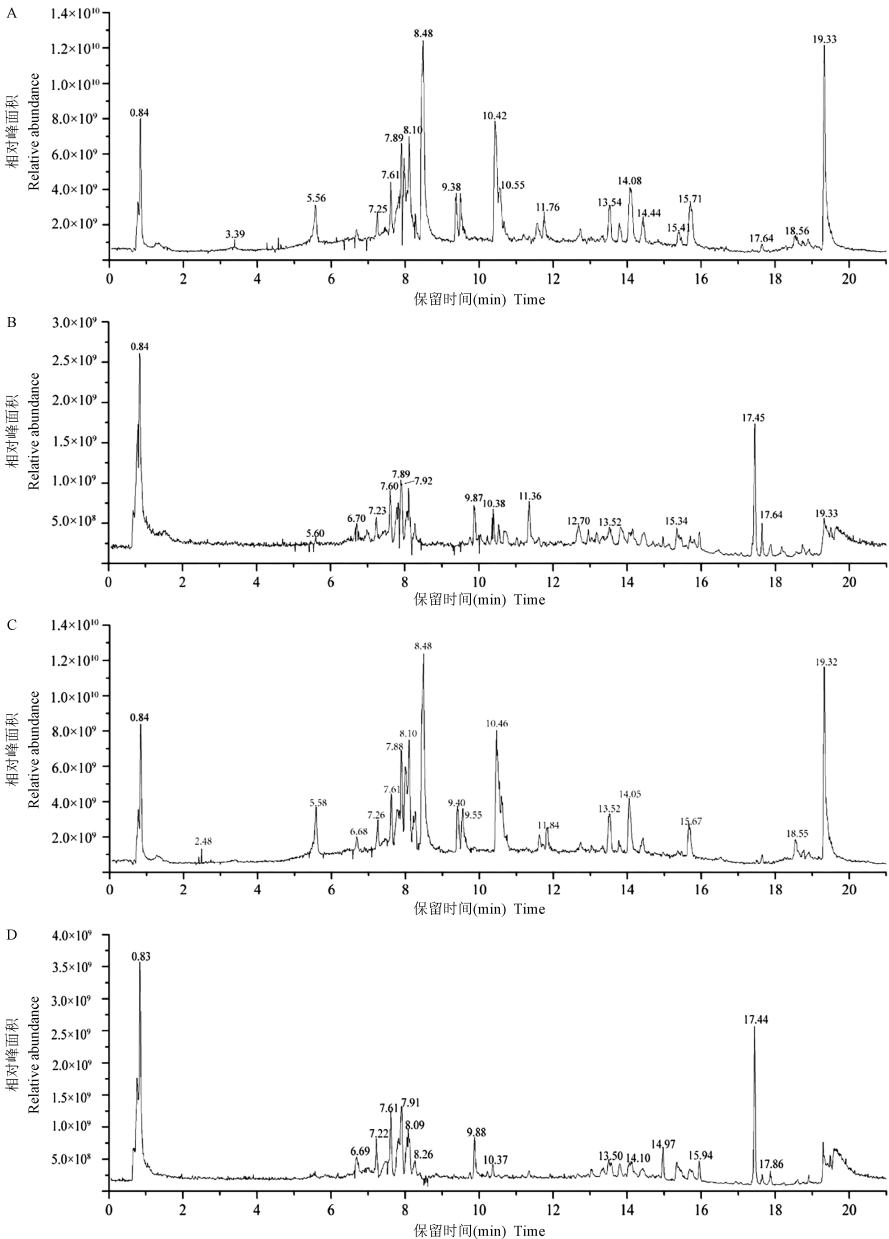
2.2.2 潜在代谢物及代谢趋势

将质谱获得的原始数据导入 CD 软件进行分析,以 $P < 0.05$ 为条件分别筛选出各周龄的差异性代谢物。在将以上数据导入 SIMCA-P 软件中进行下一步分析,采用有监督的 PLS-DA 进行模式识别发现在正负离子下两组大鼠分离较好,各周龄的模型的拟合能力和预测能力指数分别为:5 周龄正离子: $R^2Y = 0.998$, $Q^2 = 0.985$; 负离子: $R^2Y = 0.994$, $Q^2 = 0.956$, 7 周龄正离子: $R^2Y = 0.994$, $Q^2 = 0.989$; 负

表 1 不同周龄的正常组与模型组收缩压和舒张压的变化($\bar{x}\pm s$)

周龄 Weeks	模型组 SHR		正常组 WKY	
	收缩压 SBP (mmHg)	舒张压 DBP (mmHg)	收缩压 SBP (mmHg)	舒张压 DBP (mmHg)
4	139±6	80±3	135±6	76±5
5	154±2 *	88±8 *	140±3	85±6
7	160±3 *	95±6 *	154±2	86±3
9	174±4 *	107±7 **	156±6	84±5

注:与正常组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。
Note. Compared with the normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.



注:A:正离子模式下正常组;B:负离子模式下正常组;C:正离子模式下模型组;D:负离子模式下模型组。

图 1 正常组和模型组在正负离子模式下的总离子流图

Note, A, Normal group in positive ion mode. B, Normal group in negative ion mode. C, Model group in positive ion mode. D, Model group in negative ion mode.

Figure 1 Total ion current diagram of normal group and model group in positive and negative ion mode

离子: $R^2Y=0.996, Q^2=0.977$, 9 周龄正离子: $R^2Y=0.993, Q^2=0.948$; 负离子: $R^2Y=0.989, Q^2=0.901$ 表明模型预测能力较好, 且不同周龄下 100 次随机排列实验验证模型成功, 在此模型下进一步通过 $VIP>1$ 筛选重要的差异性代谢物, 通过比对 HMDB 及 KEGG 数据库找出在 5、7、9 周大鼠正负离子模式下共有的 10 个差异性代谢物(图 2), 分别是: 胆碱、花生四烯酸(arachidonic acid, AA)、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)、血栓烷 B_2 (thromboxanes B_2 , TXB_2)、尿酸、16-羟基十六烷酸、十二烷二酸、12(13)-DiHOME、胆酸、牛磺鹅去氧胆酸, 详细信息见表 2。

对代谢物进行动态分析(见图 3), 结果显示在 5 周龄时 10 种代谢物在正常组与模型组大鼠均无明显变化, 7 周龄时胆碱、AA、DHA、尿酸、16-羟基十六烷酸、十二烷二酸、12(13)-DiHOME、牛磺鹅去氧胆酸相对含量与正常组相比升高($P<0.01$), TXB_2 在 7 周龄时相对含量较 5 周龄下降($P>0.05$); 在 9 周龄时十二烷二酸、尿酸、胆酸与 7 周龄及正常组相比相对含量相比降低($P<0.01$)。在上述 10 种代谢物中胆碱、16-羟基十六烷酸、12(13)-DiHOME、牛磺鹅去氧胆酸在 5、7、9 周中相对含量持续上升($P<0.01$)与正常组无明显差异。

2.3 代谢通路分析及相关性分析

代谢通路代表一组代谢物通过生物化学方式联系在一起的生物途径, 从代谢物异常到代谢通路的变化可以深入了解在生理及病理条件下的机制, 通常用来表示从非靶向代谢组学中获得的表示病理状态下受到干扰的常见通路, 为下一步疾病中的生物学联系的验证提供依据^[6]。通过 MetaboAnalyst 将上述代谢物输入, 筛选影响值大于

0.1 的代谢通路(图 4), 发现花生四烯酸通路 & 血压的升高密切相关。进一步进行与血压相关性分析如图 5, 5 周时尿酸与血压成负相关, DHA、 TXB_2 、十二烷二酸、胆酸、AA 与血压呈正相关, 由于 5 周时 10 种差异性代谢物两组相比均无差异性; 7 周时 TXB_2 与血压正相关, DHA、尿酸、十二烷二酸、胆酸、AA 为负相关; 9 周时十二烷二酸、DHA、胆酸与血压呈正相关, TXB_2 、尿酸、AA 与血压呈负相关。

3 讨论

SHR 高血压模型与人类高血压病高度类似, 是目前研究高血压病发病机制的理想动物模型^[9]。SHR 模型血压值在大鼠出生后随着鼠龄增大而升高, 大量研究表明 2~4 月为高血压的确立期^[10], 在 4 周时 SHR 和 WKY 血压无明显差异, 在 6 周时高血压的病理状态仍不稳定, 在 9~11 周时血压值逐渐达到稳定状态^[11-12], 根据我们的实验数据分析发

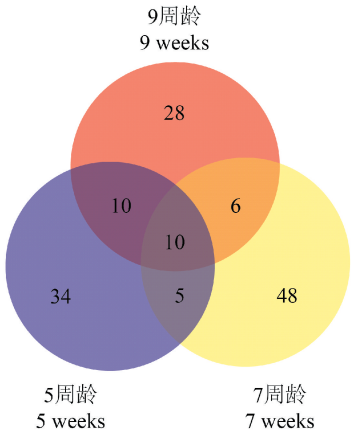
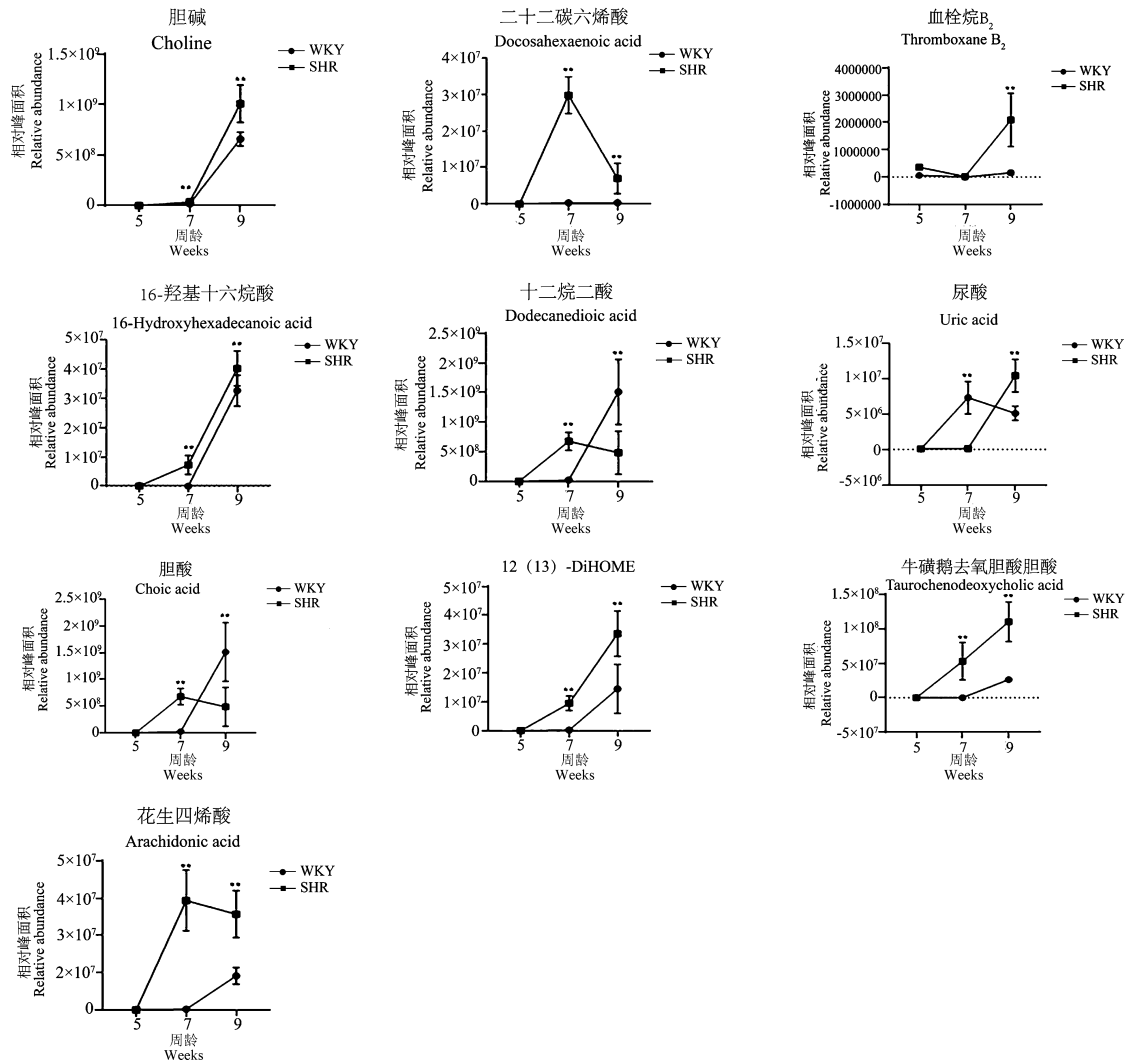


图 2 5、7 及 9 周下差异性代谢物韦恩图
Figure 2 Venn diagram of differential metabolites at 5, 7 and 9 weeks

表 2 不同周龄大鼠共有的 10 中差异性代谢物
Table 2 10 different metabolites shared by rats of different ages

编号 No.	名称 Name	质荷比 M/Z	保留时间(min) Rt	结构式 Formula
1	胆碱 Choline	103.1002	12.658	C ₅ H ₁₃ N O
2	花生四烯酸 Arachidonic acid	304.2401	17.646	C ₂₀ H ₃₂ O ₂
3	二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid	328.2401	17.381	C ₂₂ H ₃₂ O ₂
4	血栓素 B ₂ Thromboxane B ₂	370.2357	10.557	C ₂₀ H ₃₄ O ₆
5	尿酸 Uric acid	168.0272	1.145	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃
6	16-羟基十六烷酸 16-Hydroxyhexadecanoic acid	272.2354	13.911	C ₁₆ H ₃₂ O ₃
7	十二烷二酸 Dodecanedioic acid	230.1514	9.493	C ₁₂ H ₂₂ O ₄
8	胆酸 Cholic acid	408.2879	10.003	C ₂₄ H ₄₀ O ₅
9	12(13)-DiHOME	314.2461	12.725	C ₁₈ H ₃₄ O ₄
10	牛磺鹅去氧胆酸 Taurochenodeoxycholic acid	499.2973	10.434	C ₂₆ H ₄₅ N O ₆ S



注：与正常组相比，** $P < 0.01$ 。
图 3 不同周龄大鼠体内生物标志物相对含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Note. Compared with the normal group, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Comparison of the relative content of biomarkers in rats of different ages

现在第 9 周时血压已经是较稳定的高血压状态。综合以上我们选取了高血压确立期内的 5、7、9 周为研究对象,在高血压前期阶段分析血压升高过程中的代谢紊乱,有利于准确发现与血压升高相关的生物标志物。高血压的发生发展与早期的代谢紊乱密切相关,代谢紊乱进一步引起代谢综合症的发生,最终导致高血压、高尿酸血症、动脉粥样硬化等疾病及心脏、肾脏等靶器官损伤的发生,因此我们选用早期 SHR 大鼠,探究高血压早期的代谢紊乱,以期在早期恢复正常代谢,从而达到降低血压延缓靶器官损害的目的^[13-14]。本研究运用代谢组学对不同周龄大鼠体内小分子代谢物持续观察,筛选出在血压升高过程中共有的 10 种代谢物,进一步与血压

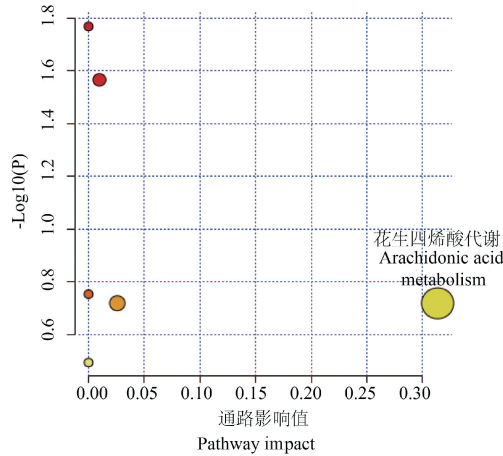
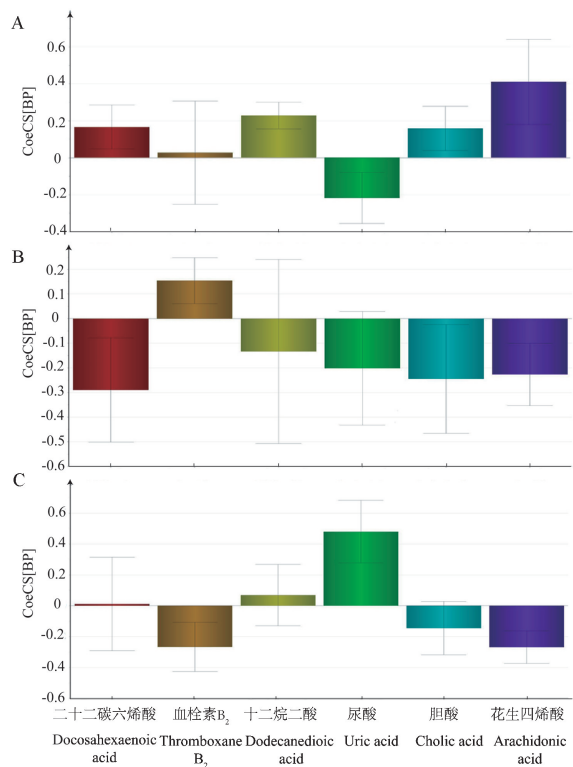


图 4 10 种差异代谢物的通路分析

Figure 4 Pathway analysis of 10 different metabolites



注:A:5 周龄;B:7 周龄;C:9 周龄。

图 5 与血压的相关分析

Note. A, 5 weeks old. B, 7 weeks old. C, 9 weeks old.

Figure 5 Correlation analysis with blood pressure

进行相关性分析,结果表明花生四烯酸代谢通路与血压的升高密切相关,同时发现脂质类代谢物密切影响血压的变化,如 AA、TXB₂、DHA。

在正常组和模型组大鼠中有差异性变化的代谢物中包括多种脂类化合物,如 TXB₂、DHA、AA 等,脂质代谢物的异常与血管炎症、动脉粥样硬化等心血管疾病的发生发展密切相关^[15]。DHA 是一种长链、高度不饱和的 omega-3 (n-3) 脂肪酸,存储在脂肪组织中以转化为甘油三酯释放到血液中^[16],omega-3 脂肪酸通过激活内皮型一氧化氮合酶,增加一氧化氮的可用性改善内皮功能,此过程只发生在心血管疾病人群中^[17],在本研究中发现 5 周时无显著性差异,在 7、9 周时模型组的 DHA 相对峰面积高于正常组,尽管在 9 周低于 7 周,通过相关性分析发现,7 周时 DHA 与血压呈负相关,9 周时虽然呈正相关,但 7 周时候相关系数绝对值远大于 9 周时相关系数的绝对值,说明 DHA 的升高不能引起血压的升高,符合上述结论,并由此推测 DHA 在血压升高中仍发挥抑制作用。

AA 也属于一种 omega-6 多不饱和脂肪酸,广泛存在于各种组织结构中^[18],在磷脂酶 A₂ 的作用下

从细胞膜磷脂中释放出游离的花生四烯酸^[19]。AA 也是多种常见脂质代谢产物的前体,在环氧合酶 (cyclooxygenase, COX)、脂氧合酶和细胞色素 P450 途径下产生多种生物活性的代谢衍生物,如前列腺素 (prostaglandins, PGs) 及血栓素 (thromboxane, TXs)、白三烯及环氧二十二烷基类化合物。其中前列腺素类代谢物,如 PGD₂、PGF_{2α} 等,具有改变血管张力、促进血小板的聚集作用,与高血压、动脉粥样硬化及糖尿病等心血管疾病密切相关^[20]。在本研究中发现 5 周龄时正常组与模型组 AA 相对丰度值无差异性,在 7、9 周时模型组的 AA 相对丰度值迅速增加且与血压呈负相关,可能与 AA 释放具有血压调节作用的代谢物相关。

在高血压状态下,COX 的表达增加促进了 AA 向前列腺素类代谢物的转化,促进前列腺素类及血栓烷类代谢物的释放,其中血栓烷类代谢物发挥重要的血压调节作用,TXA₂、TXB₂ 作为前列腺素类物质是一种有效的血管收缩物质,它在高血压动物的内皮细胞中合成增加,TXA₂ 半衰期较短,半小时内可代谢成更稳定无活性的 TXB₂,引起血管收缩升高血压^[20]。在本研究中 TXB₂ 在 5、7 周时无差异性且与血压的升高呈正相关,在 9 周时相对丰度高于正常组,且在 9 周时与血压的升高呈负相关,通过研究表明补充 DHA 能够减少大鼠前列腺素和活性氧的释放,增加一氧化氮的产生和抗氧化能力,改善脂质代谢,且激活钾离子并恢复血管超极化机制参与血管扩张反应,在一定程度上减少 SHR 大鼠中 TXA₂、PGI₂ 和 PGE₂ 释放的增加,改善血管内皮功能障碍^[21],因此发生这种变化的原因根据以上研究猜测 7 周时 TXB₂ 的下降可能与同时期 DHA 的升高有关。

众多研究表明尿酸与高血压密切相关,尿酸主要通过引起对肾的损害引起的血压升高,包括肾脏中肾素-血管紧张素系统的激活和尿腔内尿酸盐晶体沉积,尿酸盐在血管中的沉积能进一步引发促炎因子的转录,从而更直接的导致血管内皮功能障碍,促进了心血管疾病的发生^[22]。另外尿酸在缺氧条件下通过降低内皮型一氧化氮合酶磷酸化而损伤血管内皮功能^[23]。有研究表明尿酸可以上调内皮中的醛糖还原酶的表达^[24],醛糖还原酶的表达上调可以阻断一氧化氮和内源性果糖的产生,这一机制是高血压状态下血压升高的重要发病机制^[25]。本研究在 5 周时正常组与模型组无差异性,7 周

时正常组高于模型组同时相关分析为负相关,9 周时模型组尿酸相对丰度值高于正常组,且与血压升高具有正相关性,证明尿酸含量的增多与血压的升高相关,符合上述结果。

本研究在高血压自然发展状态下将外在血压表征与小鼠体内小分子代谢物相关联,发现花生四烯酸通路代谢异常是引起高血压发生发展的主要通路,由于 DHA、TXB₂ 等脂质类代谢物及尿酸等的异常对血压的变化起到主要的调控作用,因此可以依据这一结果指导我们从改善生活饮食方式来减少胰岛素抵抗、尿酸水平等方面精准的发挥对血压的调节作用。然而,本实验中与血压升高相关代谢物对高血压发生发展具体的促进或抑制作用仍需通过设计全面的实验加以阐明,并以公认的降压药作为对照药物进一步明确上述代谢物对高血压发生发展的具体作用,为阐明高血压的发生发展机制做出新的探索,以期延缓高血压的发生发展提供可靠的实验依据。

参考文献:

- [1] Schwalm JD, McCready T, Lopez-Jaramillo P, et al. A community-based comprehensive intervention to reduce cardiovascular risk in hypertension (HOPE 4): a cluster-randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2019, 394(10205): 1231-1242.
- [2] Chow CK, Gupta R. Blood pressure control: a challenge to global health systems [J]. *Lancet*, 2019, 394(10199): 613-615.
- [3] Wang H, Wang X, Qi D, et al. Establishment of the circadian metabolic phenotype strategy in spontaneously hypertensive rats: a dynamic metabolomics study [J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 38.
- [4] Tian Y, Jiang F, Li Y, et al. Evaluation of the anti-hypertensive effect of Tengfu Jiangya tablet by combination of UPLC-Q-exactive-MS-based metabolomics and iTRAQ-based proteomics technology [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 100: 324-334.
- [5] 吴佳芸, 李玲玲, 乔佳君, 等. 持续高血压状态自发性高血压大鼠血清代谢组学研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(4): 428-439.
- [6] Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(7): 451-459.
- [7] 汤喜兰, 徐国良, 董伟, 等. 异丙肾上腺素诱导心脏肥大大鼠的血清代谢组学研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 486-493.
- [8] 谢雅革, 沈克平, 卢艳琳, 等. 基于代谢组学的中医血瘀证研究概述 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(6): 2598-2601.
- [9] 方震, 杨雪, 蔺晓源, 等. 高血压病及其中医病证结合动物模型的研究进展 [J]. *中医学报*, 2021, 49(10): 94-97.
- [10] 张英展. 自发性高血压大鼠血压发展过程中血管内皮依赖性收缩的变化及机制研究 [D]. 汕头: 汕头大学, 2021.
- [11] 林琳, 凌亚豪, 范潇予, 等. 不同周龄 SHR、Wistar 大鼠血压及心电图背景数据的建立 [J]. *实验动物科学*, 2017, 34(5): 48-52.
- [12] 赵健清, 丁露, 曾俊义, 等. 自发性高血压大鼠心肌纤维化时序动态变化 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(6): 724-729.
- [13] Del Gaudio I, Rubinelli L, Sasset L, et al. Endothelial Sphs2 and ApoM regulation of vascular tone and hypertension via sphingosine-1-phosphate [J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10(14): e021261.
- [14] 鲁婕雨, 石文翔, 孔祥清. 高血压代谢组学研究进展 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(2): 286-291.
- [15] 张世明, 齐冬梅, 曹艺明, 等. 钩藤干预自发性高血压大鼠肝脏代谢紊乱的脂质组学研究 [J]. *药学报*, 2019, 54(9): 1636-1644.
- [16] Richard C, Calder PC. Docosahexaenoic acid [J]. *Adv Nutr*, 2016, 7(6): 1139-1141.
- [17] Bercea CI, Cottrell GS, Tamagnini F, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and hypertension: a review of vasodilatory mechanisms of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(4): 860-877.
- [18] 赖金胜, 陈琛. 花生四烯酸的细胞色素 P450 酶代谢途径产物 EETs 和 20-HETE 在血管功能调控中的作用 [J]. *生理学报*, 2021, 73(4): 631-645.
- [19] 鲍乾坤, 张栩, 朱毅. 类二十烷酸代谢组学在心血管疾病研究中的应用与进展 [J]. *生理学报*, 2021, 73(4): 606-616.
- [20] Edwards JM, McCarthy CG, Wenceslau CF. The obligatory role of the acetylcholine-induced endothelium-dependent contraction in hypertension: can arachidonic acid resolve this inflammation? [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(30): 3723-3732.
- [21] Villalpando DM, Navarro R, Del Campo L, et al. Effect of Dietary docosahexaenoic acid supplementation on the participation of vasodilator factors in aorta from orchidectomized rats [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142039.
- [22] Albu A, Para I, Porojan M. Uric acid and arterial stiffness [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2020, 16: 39-54.
- [23] Otani N, Toyoda S, Sakuma M, et al. Effects of uric acid on vascular endothelial function from bedside to bench [J]. *Hypertens Res*, 2018, 41(11): 923-931.
- [24] Sanchez-Lozada LG, Andres-Hernando A, Garcia-Arroyo FE, et al. Uric acid activates aldose reductase and the polyol pathway for endogenous fructose and fat production causing development of fatty liver in rats [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(11): 4272-4281.
- [25] Lanaspas MA, Andres-Hernando A, Kuwabara M. Uric acid and hypertension [J]. *Hypertens Res*, 2020, 43(8): 832-834.