



妊娠期高血压疾病尿液差异蛋白质组学研究

付立艳 (湖南省核工业 240 医院 湖南郴州 423000)

摘要: **目的** 探讨妊娠期高血压疾病尿液差异蛋白质组学, 进而为早期的疾病诊断提供重要的参考依据。**方法** 选择我院 2015 年 6 月到 2016 年 5 月收治的 30 名妊娠期高血压疾病孕妇作为研究的对象, 其中妊娠期高血压孕妇 10 名, 轻度子痫前期孕妇 10 名, 重度子痫前期孕妇 10 名, 同期选择我院的 10 名正常孕妇作为对照组, 测定 40 名孕妇尿液中差异蛋白质, 并采用辅助仪器进行分析。**结果** 采用 DeCyder2D 分析软件进行结果分析, 发现共有 65 个差异蛋白质点。采用酶解以及 MALDI-TOF-MS 对 65 个差异蛋白点进行分析, 共鉴定出蛋白 30 种, 蛋白评分为 100%, 鉴定的结果具有较高的可信度。**结论** 应用蛋白质组学技术能够成功的筛选出妊娠期高血压疾病患者尿液的差异蛋白, 并找出这些蛋白与妊娠期高血压疾病的相关性, 为早期妊娠期高血压疾病的诊断提供了重要的参考依据。

关键词: 妊娠期高血压 尿液 蛋白质 组学研究

中图分类号: R714.246 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2017) 05-005-02

妊娠期高血压作为我国发病率较高的一项疾病, 该疾病可导致孕妇全身的脏器严重损伤, 使胎儿的生长受限, 严重会导致胎儿宫内死亡的危险, 是引起孕妇和新生儿死亡的重要原因之一^[1]。因此对该病及早的预防和筛查对于提高孕妇和新生儿的生命健康具有重要的意义和价值。临床中利用尿液分析蛋白质组学技术已经得到了广泛的应用。本文将选择我院收治的正常孕妇与妊娠期高血压疾病孕妇的尿液作为对比, 探讨差异蛋白质在早期疾病诊断和筛查中的意义和作用。现做如下的报告:

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择我院 2015 年 6 月到 2016 年 5 月收治的 30 名妊娠期高血压疾病孕妇作为研究的对象, 其中妊娠期高血压孕妇 10 名, 轻度子痫前期孕妇 10 名, 重度子痫前期孕妇 10 名。所有孕妇均符合妊娠期高血压疾病的诊断标准^[2-3]: 妊娠期首次出现 BP $\geq 140/90$ mmHg, 产后 12 周达到正常, 尿蛋白为 (-), 其中轻度子痫前期孕妇在妊娠期 20 周 BP 超过 140/90mmHg, 尿蛋白 (+); 重度子痫前期孕妇 BP 超过 160/110mmHg, 血 LDH 升高, 出现持续性的头痛、腹部不适以及胎儿生长受限等症。同期选择我院的 10 名正常妊娠期孕妇作为对照组。四组孕妇的一般资料如表 1 所示。四组孕妇的一般资料相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 因此可以进行比较。

表 1: 四组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	年龄 (岁)	孕次 (次)	产次 (次)	诊断孕龄 (d)
对照组	32.56 ± 4.41	2.35 ± 1.21	0.68 ± 0.26	277.75 ± 18.52
妊娠期高血压组	33.23 ± 4.52	2.58 ± 1.02	0.75 ± 0.16	274.32 ± 20.16
轻度子痫前期组	31.23 ± 5.12	2.41 ± 1.23	0.73 ± 0.22	269.52 ± 22.35
重度子痫前期组	34.52 ± 3.12	2.41 ± 1.32	0.68 ± 0.23	265.84 ± 20.74
F 值	0.231	0.0231	0.148	0.326
P 值	0.862	0.996	0.962	0.805

1.2 方法

采用双向电泳系统 (GE 公司)、蛋白浓度检测试剂盒 (Ettan TM 2-D QuantKit)、质谱级蛋白酶 (Promega 公司)。收集 4 组孕妇的尿液样本, 浓缩后为 1ml, 用试剂盒将其中的双向电泳干扰物去除。将样品与水混合后, 放在胶条上, 放入到电泳系统中进行第一向电泳等电聚焦, 然后依次采用平衡液进行平衡, 最后进行第二向电泳。之后进行胶图的扫描和分析图像。差异蛋白斑点经过脱色、胰蛋白酶消化后, 与样品蛋白充分混合, 晾干形成结晶后放入到质谱仪中检测。

2 结果

2.1 双向电泳与图像分析结果

采用 DeCyder2D 分析软件进行结果分析, 发现共有 65 个差异蛋白质点, 具体位置如图 1 所示。妊娠期高血压相比对照组, 共有 44 个差异蛋白点, 上调、下调各 22 个; 轻度子痫前期与妊娠期高血压组相比, 共有 50 个差异蛋白点, 上调 15 个, 下调 35 个; 重度子痫前期与轻度组相比, 差异蛋白点共有 45 个, 上调 9 个, 下调 36 个。

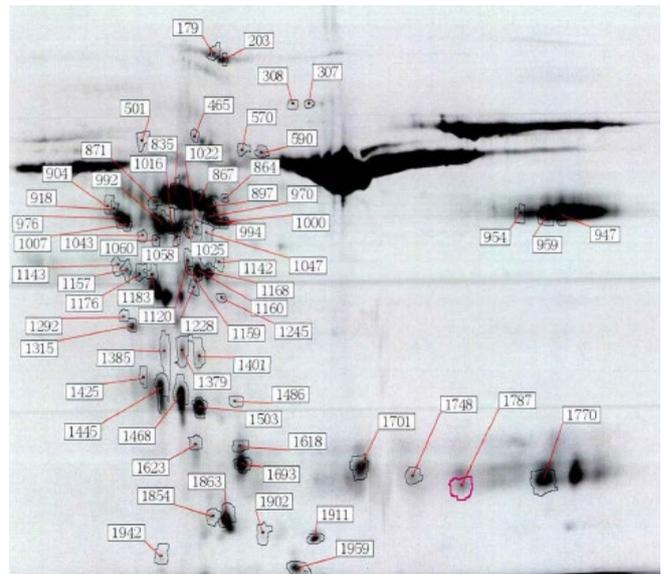


图 1: 软件分析后的 65 个差异点分布情况

2.2 差异蛋白点的质谱分析结果

采用酶解以及 MALDI-TOF-MS 对 65 个差异蛋白点进行分析, 共鉴定出蛋白 30 种, 本研究将选择 10 种进行分析。如表 2 所示。蛋白评分为 100%, 鉴定的结果具有较高的可信度。

3 讨论

妊娠期高血压疾病是妊娠期间所特有的全身性多功能紊乱性疾病, 严重可导致产妇和新生儿的死亡, 对其发病机制至今尚不明确。随着近年来蛋白质组学的迅速发展, 妊娠期高血压疾病的蛋白质组学分析已经成为医学界研究的重点, 通过分析孕妇尿液、血清等存在的差异蛋白质谱, 进而发现妊娠期高血压疾病的相关发病机制, 对临床疾病的早期诊断和治疗起着重要的作用和价值^[4]。

差异蛋白质组学包括蛋白质分离和蛋白质的鉴定。对于蛋白质的分离技术, DIGE 技术继承了双向凝胶电泳的高分辨率特性, 同时又具有较高的灵敏度, 成为蛋白质组学定量分析的主要手段之一。对于蛋白质的鉴定技术, 常常采用质谱技术, 具有较高的灵敏度, 应用技术相对简单, 便于操作。对于妊娠期高血压疾病的蛋白质组学研究中常常使用的是孕妇的血清、尿液、羊水等, 但很多学者的研究结果都不尽相同。尿液是经过血液肾小球过滤, 经过肾小管和集合管的重复吸收, 最终产生的代谢物质, 能够将机体的整体状况反应出来。与血清、羊水等物质相比, 尿液简单方便、易取, 蛋白组成分析也相对比较简单。因此本研究中选择尿液作为样本分析。本研究通过差异图谱和软件分析发现, 妊娠期高血压孕妇与正常的孕妇相比, 差异蛋白点共有 44 个, 且上调和下调分别为 22 个。轻度子痫前期与妊娠期高血压孕妇相比,

(下转第 7 页)



血症也是重要因素, OR 值达 6.76 左右, 高甘油三酯血症患者干细胞内游离脂肪酸增加, 在清除处理阶段需要掌握合成因素, 为了避免出现脂肪在肝细胞内聚集, 高甘油三酯血症可以通过游离脂肪酸干扰胰岛素的方式, 保证其与周围受体相结合, 使胰岛素生物效应降低。根据多因素 Logistic 回归分析可知, 飞行时间 OR 值为 4.281, 年龄 OR 值为 3.21, 这两者和飞行员脂肪肝的产生有密切的联系, 针对脂肪肝的特殊影响, 在后续分析阶段必须做好基础检测工作, 按照指标要求进行应用^[5]。

3.3 脂肪肝的防治措施

3.3.1 掌握危险因素: 重点人群要按照检测要求落实, 对于体重超标或者年龄比较大的飞行员必须定期进行检查和评估。多因素干扰性比较强, 对脂肪肝危险因素可以采用积极控制和干预形式, 必要时进行保健知识普及教育。多因素干预以辅助教育为主, 具体涉及到控制饮食、适当锻炼两方面, 要对飞行员现有的饮食结构进行了解, 危险性因素比较多, 要适当改善营养状况, 调节血脂水平, 最大程度降低甘油三酯浓度。

3.3.2 饮食控制: 饮食结构的调整起到突出作用, 为了避免出现防治不合理或者结构不完善的现象, 需要组织飞行员进行教育讲座, 日常生活中很多事项都需要引起注意, 定期组织体育活动等, 以达到戒酒及防止体重超重的目的。此外进行飞行员脂肪肝患病率调查和危险因素的评估和分析, 及时调整脂肪肝措施, 为脂肪肝提供有效预防措施。体重因素也可能影响飞行员的身体状态, 在积极治疗原发性疾病的同时, 要制定相对应的减脂计划, 让运动员按照计划进行运动, 最大程度减掉脂肪, 保证自身身体健康。在本次研究中对 20 例研究对象进行适当的锻炼和饮食调整, 同时加入药物缓解治疗, 其中 1 例患者由于自身身体因素的影响, 治疗效果不明显, 体重明显超标, 无法继续飞行。其他患者均严格按照防治计划进行, 效果明显, 体重恢复正常, 各项身体指标得到缓解^[6]。

3.3.3 强化运动训练: 脂肪肝和不良习惯存在一定的联系, 因此

要强化运动, 从现状入手, 做好运动训练工作。相关指导负责人要结合飞行员的自身情况制定个性化的锻炼方案, 让每一位飞行员能有效提升综合能力。

3.4 报告总结

在本次研究中对所有研究对象的检查结果进行分析, 所有患者治愈后均进行高空工作, 经过随访检查后, 18 例飞行员肝功能、血脂和肝 B 超在正常范围内, 17 例研究对象的飞行耐力良好。其中 1 例飞行员由于受到高血压, 高血脂以及肝功能不达标等因素的影响, 无法继续飞行。说明脂肪肝对飞行员身体有严重的影响, 针对其特殊性, 在临床研究中必须从具体情况入手, 及时对病情进行分析, 调整训练要求和指标, 使其达到正常体重和飞行标准。

综上所述, 民航飞行员脂肪肝对自身有严重的影响, 需要医护人员对其具体情况进行分析, 调整饮食结构, 积极参与到体育训练中, 定期进行肝功能检查^[7]。

参考文献

- [1] 林静. 民航飞行员脂肪肝的防治[J]. 航空航天医学杂志, 2015, 03(01):302+347.
- [2] 姜懿华, 陈立, 范景霞, 宗玉国. 海军飞行员脂肪肝患病率及危险因素分析[J]. 中华航空航天医学杂志, 2013, 03(13):43-46.
- [3] 刘红巾, 张素红, 陶艳华. 空军战斗机飞行员脂肪肝患病率及危险因素研究[J]. 军医进修学院学报, 2012, 01(04):28-29.
- [4] 冯肖, 金灿道, 王冬, 陆鸣. 海军飞行员脂肪肝患病趋势及相关因素的调查[J]. 中华保健医学杂志, 2010, 03(14):181-183.
- [5] 颜娜. 湖南某民航航空勤人员营养状况及 KAP 调查研究[D]. 中南大学, 2010, 01(13):69-70.
- [6] 刘铁兵, 王姗姗, 陈振玲, 张婵媛. 中国飞行员血脂异常现状的 Meta 分析[J]. 华南国防医学杂志, 2016, 10(14):649-653.
- [7] 陈志平, 张志坚. 军人脂肪肝的流行病学研究现状[J]. 临床军医杂志, 2011, 05(03):762-764.

(上接第 5 页)

差异点蛋白共有 50 个。而重度和轻度子痫前期孕妇相比, 差异点蛋白共有 45 个。在尿液中初步鉴定出 30 种蛋白, 发现这些蛋白的存在与妊娠期高血压疾病的发生与发展有着十分紧密的联系。相关研究表明^[5], 妊娠期高血压疾病的孕妇胎盘中钙黏蛋白呈现出递减的趋势, 进而对胎盘的发育造成了一定的影响, 产生了子痫前期疾病的发生。而在本研究中发现, 妊娠期高血压孕妇尿液中钙黏蛋白的含量呈现出

升高的趋势, 可能是疾病早期的代偿反应有很大的关系。轻度和重度子痫前期孕妇中的钙黏蛋白明显高于对照组的孕妇, 说明了妊娠期高血压的发生与钙黏蛋白有着很大的关系。因此在临床中对孕妇钙黏蛋白含量的检测对妊娠期高血压疾病的诊断具有一定的帮助作用。

综上所述, 应用蛋白质组学技术能够成功的筛选出妊娠期高血压疾病患者尿液的差异蛋白, 并找出这些蛋白与妊娠期高血压疾病的相关性, 为早期妊娠期高血压疾病的诊断提供了重要的参考依据。

表 2: 蛋白斑点文库鉴定结果

蛋白编号	蛋白名称	基因名称	分子量	等电点	G/N	M/N	S/N
P00450	血浆铜蓝蛋白	CP	122982.9	5.44	2.40	2.96	2.67
P02768	血清白蛋白	ALB	71317.2	5.92	0.66	2.45	1.32
P04217	a-1B- 期蛋白	AIBG	54808.8	5.58	1.05	0.69	0.53
P55287	钙黏蛋白	CDH11	88367.0	4.75	1.67	0.35	0.58
P01009	a-1 抗胰蛋白酶	SERPINA1	46878.1	5.37	0.49	1.86	0.84
P02790	血红蛋白	HPX	52384.6	6.55	0.47	0.40	0.64
P01008	抗凝血酶 III	SERPINC1	53025.6	6.32	0.53	0.89	0.60
P01042	激肽原 1	KNG1	53025.0	6.34	0.59	0.61	0.24
P02765	a-2- 硫酸乙酰肝素糖蛋白	AHSG	72995.6	5.43	0.92	0.12	0.15
P01860	Ig γ -3 链 C 恒定区	IGHG3	40098.0	8.32	1.57	1.80	1.56
P04746	a- 胰淀粉酶	AMY2A	42286.8	6.60	1.93	2.21	1.51

参考文献

- [1] 郭红霞, 王晨虹, 冷灵芝, 钟梅. 妊娠期高血压疾病尿液差异蛋白质分析及其 Perlecan 含量变化[J]. 现代妇产科进展, 2016, 28(04):253-256.
- [2] 朱文秀, 蔡雁, 邢宁宁. 蛋白质组学在妊娠期高血压疾病中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2013, 11(36):7194-7196.
- [3] 郭红霞, 胡金艳, 胡水旺, 王晨虹, 王洁. 妊娠期高血压疾

病孕妇尿液中激肽原 1 含量的变化[J]. 中国妇幼保健, 2015, 27(15):2339-2341.

- [4] 朱文秀, 蔡雁, 肖巍, 卫丽, 王晓燕, 韩世愈, 朱莉, 高晓旭, 宋敬, 董铁军. 妊娠期高血压疾病特异性标志物的蛋白质组学测定及应用[J]. 实用妇产科杂志, 2013, 28(08):613-617.
- [5] 李莉, 丛林. 重度子痫前期患者血清差异蛋白质组学研究[J]. 现代妇产科进展, 2012, 28(09):665-668.