

原发性高血压患者血管紧张素转换酶 2-血管紧张素-(1~7)-Mas 轴水平的性别差异研究[△]

刘 丹, 陈永跃, 张 屏, 靳立军, 张曹进, 林曙光, 吴书林, 于汇民

[广东省心血管病研究所内科 广东省人民医院(广东省医学科学院), 广州 510080]

摘要: 目的 研究原发性高血压(高血压)患者的血清血管紧张素转换酶 2-血管紧张素-(1~7)-Mas 轴 [angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin-(1~7)-mas axis, ACE2-Ang-(1~7)-Mas] 水平的性别差异。方法 收集高血压患者 193 例, 其中男 95 例, 女 98 例。观察 ACE2-Ang-(1~7)-Mas 轴水平与性别的相关性。结果 基线资料比较中, 男女间年龄、血氯、肌酐、血糖、总胆固醇、高密度脂蛋白、尿酸比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 其中女性年龄较大, 血氯、血糖、总胆固醇和高密度脂蛋白浓度高于男性。女性患者与男性患者相比, 血清 Ang-(1~7) 浓度显著降低, 差异有统计学意义 [(1 055.8±787.4)pg/mL vs. (1 363.0±1 082.4)pg/mL, $P = 0.025$]; 且血清 Ang-(1~9) 浓度显著升高, 差异有统计学意义 [(72.2±77.1)pg/mL vs. (50.5±48.1)pg/mL, $P = 0.021$]。结论 高血压患者 ACE2-Ang-(1~7)-Mas 轴水平存在性别差异。

关键词: 高血压; 性别; 血管紧张素转换酶 2; 血管紧张素-(1~7); 血管紧张素-(1~9)

中图分类号: R544.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-9688(2016)02-0161-04

Gender differences in angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin-(1-7)-mas axis level in patients with essential hypertension

LIU Dan, CHEN Yong-yue, ZHANG Ping, JIN Li-jun, ZHANG Cao-jin, LIN Shu-guang, WU Shu-lin, YU Hui-min

(Department of Cardiology, Guangdong Cardiovascular Institute, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Objectives To examine the gender differences in angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin-(1-7)-mas [ACE2-Ang-(1-7)-Mas] axis level in patients with essential hypertension. **Methods** A total of 193 patients with essential hypertension including 95 males and 98 females participated in our study. Serum concentrations of ACE2, Ang-(1-7) and Ang-(1-9) were detected in all patients. **Results** There were significant gender differences in age, chloride, creatinine, glucose, total cholesterol, high-density lipoprotein and uric acid among baseline characteristics ($P < 0.05$). Serum concentration of Ang-(1-7) was significantly lower in female patients compared with male patients [(1 055.8±787.4) pg/mL vs. (1 363.0±1 082.4) pg/mL, $P = 0.025$]. Serum concentration of Ang-(1-9) was significantly greater in female patients compared with male patients [(72.2±77.1) pg/mL vs. (50.5±48.1) pg/mL, $P = 0.021$]. There were no significant differences in serum concentration of ACE2 between different genders ($P > 0.05$).

Conclusions ACE2-Ang-(1-7)-Mas axis level is related to gender differences in hypertensive patients.

Key words: essential hypertension; gender; angiotensin-converting enzyme 2; angiotensin-(1-7); angiotensin-(1-9)

原发性高血压(高血压)是我国最常见的慢性疾病之一,是冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)

病)、脑卒中等心脑血管疾病的主要危险因素之一。肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) 在高血压的发生、发展中起着重要作用,近年来随着血管紧张素转换酶 2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)、血管紧张素 (angiotensin, Ang)-(1~7) 及其受体 Mas 等 RAAS 新成员的发现,使人们对这一系统的认识进一步深化。ACE2 可水解 Ang I 为 Ang-

[△]基金项目:国家自然科学基金(项目编号:No.81273599);广东省自然科学基金(项目编号:No.2015A030313661);广东省省级科技计划项目(项目编号:No.2014A020212404)。

作者简介:刘丹(1991-),女,在读硕士研究生,研究方向为原发性高血压。

通信作者:于汇民, E-mail: hmypumc@163.com

(1~9), 水解 Ang II 为 Ang-(1~7); Mas 受体为 Ang-(1~7) 的特异性受体, 共同构成 ACE2-Ang-(1~7)-Mas 轴。由于 ACE2 基因位于 X 染色体上, 男性有 1 条 X 染色体, 女性有 2 条 X 染色体, 故男女存在遗传上的差异。研究显示 ACE2 水平有性别差异^[1], 我们推断其代谢产物 Ang-(1~7)、Ang-(1~9) 浓度存在性别差异。本研究的目的是观察高血压患者 ACE2-Ang-(1~7)-Mas 轴活性与性别之间的相关性。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选择 2014 年 7 月至 2015 年 4 月在广东省人民医院住院的高血压患者 193 例为研究对象。入选标准: 高血压患者; 年龄 18~79 岁, 男女不限; 患者同意参加本研究并签署知情同意书。排除标准: 继发性高血压和肾动脉狭窄患者; 肝及肾功能障碍患者; 孕妇、哺乳妇女; 嗜酒、吸毒、精神异常及情绪智力障碍患者; 有 RAAS 抑制剂(直接肾素抑制剂、血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂或醛固酮拮抗剂)药物服用史的患者。基线资料包括病史; 体检; 血压: 测量时间为上午 8:00~10:00, 固定血压计, 连续三次坐位测量固定上肢血压, 取平均值, 测量前患者休息 15 min; 心率: 测量血压的同时进行, 测 30 s。实验室检查包括血清钠、钾、氯、肌酐、尿素氮、血糖、总胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、三酰甘油、尿酸以及谷丙转氨酶浓度等。

1.2 研究方法

取静脉血 5 mL 装入普通干管内, 血样室温放置 60~90 min 使其自然凝固, 然后 1 500 g 离心 20 min, 吸取上层血清分装于 EP 管中, 置入 -80 °C 冰箱保存备用。严格按照酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒说明书进行操作。取出冻存血清, 缓慢均衡至室温。

1.2.1 血清血管紧张素转换酶 2 浓度检测方法

应用双抗体夹心酶联免疫吸附法方法检测血清 ACE2 浓度。加样: 分别设标准孔、待测样品孔、空白孔。设标准孔 7 孔, 依次加入 100 μ L 不同浓度的标准品、待测样品, 空白孔加 100 μ L 标准品稀释液, 覆膜 37°C 温育 2 h, 弃液, 每孔加检测溶液 A 工作液 100 μ L, 覆膜 37°C 温育 1 h, 弃液洗板, 每孔加检测溶液 B 工作液 100 μ L, 覆膜 37°C 温育 30 min, 弃液洗板, 每孔加底物溶液 90 μ L, 覆膜

37°C 避光显色, 每孔加终止溶液 50 μ L, 终止反应, 此时蓝色立转黄色。立即用酶标仪在 450 nm 波长测量各孔的 OD 值。以标准品的浓度为纵坐标, OD 值为横坐标, 绘出标准曲线, 根据样品 OD 值, 由标准曲线查出相应的浓度, 乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。

1.2.2 血清血管紧张素-(1~7) 和血管紧张素-(1~9) 浓度检测方法

应用竞争抑制酶联免疫吸附法方法检测血 Ang-(1~7)、Ang-(1~9) 浓度。加样: 分别设标准孔、待测样品孔、空白孔。设标准孔 5 孔, 依次加入 50 μ L 不同浓度的标准品、待测样品, 空白孔加 50 μ L 标准品稀释液, 立即在每孔中加入检测溶液 A 工作液 50 μ L, 覆膜 37°C 温育 1 h, 弃液洗板, 每孔加检测溶液 B 工作液 100 μ L, 覆膜 37°C 温育 30 min, 弃液洗板, 每孔加底物溶液 90 μ L, 覆膜 37°C 避光显色, 每孔加终止溶液 50 μ L, 终止反应, 此时蓝色立转黄色。立即用酶标仪在 450 nm 波长测量各孔的 OD 值。以标准品的浓度为纵坐标, OD 值为横坐标, 绘出标准曲线, 根据样品 OD 值, 由标准曲线查出相应的浓度, 乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 13.0 版(SPSS, Chicago, Ill) 统计软件处理数据。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 行单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高血压患者男女间基线资料的比较

在 193 例高血压患者中, 男性患者有 95 例(49.2%), 女性患者有 98 例(50.8%)。不同性别基线资料比较中, 年龄及血氯、肌酐、血糖、总胆固醇、高密度脂蛋白、尿酸浓度比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。其中女性年龄较大, 血氯、血糖、总胆固醇和高密度脂蛋白浓度高于男性, 血清肌酐、尿酸浓度低于男性, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 高血压患者男女间 ACE2-Ang-(1~7)-Mas 轴水平的比较

在高血压患者中, 不同性别患者的血清 Ang-(1~7)、Ang-(1~9) 浓度比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。女性患者与男性患者相比, 血清 Ang-(1~7) 浓度显著降低, 而血清 Ang-(1~9) 浓度显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 男女患者血清 ACE2 浓度比较, 差异无统计学意义($P =$

表 1 男性和女性高血压患者基线资料比较 [$\bar{x}\pm s$]

项 目	男性	女性	全体	P 值
n	95	98	193	
年龄/岁	62.9±9.8	66.4±10.4	64.7±10.3	0.017
体质量指数/kg·m ⁻²	24.4±3.3	23.5±3.4	24.1±3.3	0.116
钠/mmol·L ⁻¹	138.8±2.3	139.5±2.7	139.2±2.5	0.050
钾/mmol·L ⁻¹	3.7±0.4	3.7±0.4	3.7±0.4	0.918
氯 /mmol·L ⁻¹	104.3±3.2	105.2±3.3	104.8±3.3	0.046
血肌酐/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	95.3±26.3	80.2±61.1	87.5±48.2	0.029
尿素氮/mmol·L ⁻¹	5.5±2.0	5.4±4.3	5.5±3.4	0.857
血糖/mmol·L ⁻¹	6.3±2.0	7.2±3.2	6.8±2.7	0.016
总胆固醇/mmol·L ⁻¹	4.1±1.0	4.5±1.0	4.3±1.0	0.016
低密度脂蛋白 /mmol·L ⁻¹	2.4±0.8	2.5±0.9	2.4±0.8	0.155
高密度脂蛋白 /mmol·L ⁻¹	1.0±0.2	1.1±0.3	1.0±0.3	0.001
三酰甘油/mmol·L ⁻¹	1.9±2.1	1.8±1.0	1.8±1.6	0.655
尿酸/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	428.7±116.5	364.7±106.5	394.5±115.5	0.000
丙氨酸转氨酶/U·L ⁻¹	30.6±22.3	29.0±31.2	29.8±27.2	0.697
心率/次·min ⁻¹	74.7±11.6	73.3±13.3	74.0±12.5	0.405
收缩压/mmHg	139.2±19.2	144.2±19.2	141.8±19.3	0.072
舒张压/mmHg	78.7±12.0	77.4±10.3	78.0±11.1	0.421

0.340), 详见表 2。

表 2 男性和女性高血压患者 ACE2-Ang-(1~7)-Mas 轴水平比较 [$\bar{x}\pm s$]

性别	n	ACE2 /pg·mL ⁻¹	Ang-(1~7)/pg·mL ⁻¹	Ang-(1~9)/pg·mL ⁻¹
男性	95	7 304.9±3 198.0	1 363.0±1 082.4	50.5±48.1
女性	98	6 751.2±4 685.5	1 055.8±787.4	72.2±77.1
F 值		0.914	5.106	5.459
P 值		0.340	0.025	0.021

3 讨 论

RAAS 是人体内重要的体液调节系统, 在生理情况下对血压调控、水盐代谢起着重要作用, 而在病理情况下, 则与血压增高密切相关。作为 RAAS 家族的新成员, Ang-(1~7)、Ang-(1~9) 及其转化酶 ACE2 具有扩血管和降血压等心血管保护作用, 在正常人体中的水平很低, 甚至测不到, 在高血压等病理状态下水平明显增高, 是 RAAS 的自我调节和平衡, 对患者的血压有着重要的影响。研究显示在女性孕早期, 血清 RAAS 水平受胎儿性别的影响, 表明 RAAS 活性水平可能存在性别差异^[2]。本研究结果显示, 在男女高血压患者中, 血清 ACE2 浓度比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 可能与本研究样本量较小相关; 但女性患者的血清 Ang-(1~7) 浓度低于男性患者, 血清 Ang-(1~9) 浓度高于男性患者。

血液 ACE2 活性水平和组织 ACE2 表达水平均与高血压等心血管疾病密切相关, 动物实验证实, ACE2 酶活性及水平的升高对心血管系统具有保护作用。有研究显示, 血清 ACE2 活性与性别相关, 男性与女性相比有更高水平^[3]。最近有研究显示, 高血压小鼠中 ACE2 水平存在性别差异^[4,5]。去卵巢雌性小鼠中, 肾皮质 ACE2 蛋白表达下降^[6], 雌激素可增加心脏 ACE2 蛋白表达水平^[7]。也有研究显示, 男性的血清 ACE2 活性水平高于女性^[1,8]。另有研究显示, Mas 受体的表达也存在性别差异^[4,9]。但本研究显示男、女高血压患者的血清 ACE2 浓度比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。由于本研究并未检测血清 ACE2 活性, 所以无法判定 ACE2 活性在男、女间的差异及其对血清 Ang-(1~7) 和 Ang-(1~9) 浓度的影响。理论上血清 Ang-(1~7) 和 Ang-(1~9) 浓度除了受 ACE2 浓度的影响, 还会受 ACE2 活性的影响, 这是本研究的不足。

据文献报道, 血清 Ang-(1~7) 浓度存在一定性别差异。动物研究显示, 雌性鼠中血清 Ang-(1~7) 浓度较高^[10]; 雌激素可升高血清 Ang-(1~7) 浓度^[11]; 另一方面, 皮下注射雌激素后, 卵巢切除雌性 SD 大鼠的 Ang-(1~7) 舒张反应减弱^[12]。另有研究发现, Ang-(1~7) 存在性别间的组织差异, 相比于雄性, 雌性小鼠的肾脏 Ang-(1~7) 浓度较高; 然而, 心脏 Ang-(1~7) 浓度不存在性别差异^[4]。我们研究有不同发现, 相对于男性, 女性高血压患者的血清 Ang-(1~7) 浓度较低。关于血清 Ang-(1~7) 浓度与性别存在差异的机制, 目前尚不清楚, 雌性小鼠中血清 Ang-(1~7) 浓度高于雄性, 推测可能与脑啡肽酶 (neprilysin) 活性升高, 直接转化 Ang-I 为 Ang-(1~7) 有关^[10]。目前尚无血清 Ang-(1~9) 浓度的性别差异研究, 我们首次发现, 相对于男性, 女性高血压患者的血清 Ang-(1~9) 浓度较高。

总之, 本研究发现高血压患者血清 ACE2-Ang-(1~7)-Mas 轴水平在男女间不同, 女性患者血清 Ang-(1~7) 浓度低于男性患者, 但 Ang-(1~9) 浓度高于男性患者, 提示该轴水平存在性别差异。

参考文献:

[1] SORO-PAAVONEN A, GORDIN D, FORSBLOM C, et al. Circulating ACE2 activity is increased in patients with type 1 diabetes and vascular complications[J]. J Hypertens, 2012, 30

- (2): 375-383.
- [2] SYKES S D, PRINGLE K G, ZHOU A, et al. The balance between human maternal plasma angiotensin II and angiotensin 1-7 levels in early gestation pregnancy is influenced by fetal sex[J]. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2014, 15(4): 523-531.
- [3] BURRELL L M, HARRAP S B, VELKOSKA E, et al. The ACE2 gene: its potential as a functional candidate for cardiovascular disease[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124(2): 65-76.
- [4] SULLIVAN J C, BHATIA K, YAMAMOTO T, et al. Angiotensin (1-7) receptor antagonism equalizes angiotensin II-induced hypertension in male and female spontaneously hypertensive rats[J]. *Hypertension*, 2010, 56(4): 658-666.
- [5] GUPTA M, THATCHER S E, BOUSTANY-KARI C M, et al. Angiotensin converting enzyme 2 contributes to sex differences in the development of obesity hypertension in C57BL/6 mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(6): 1392-1399.
- [6] JI H, MENINI S, ZHENG W, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 and angiotensin (1-7) in 17 beta-oestradiol regulation of renal pathology in renal wrap hypertension in rats[J]. *Exp Physiol*, 2008, 93(5): 648-657.
- [7] SHENOY V, GROBE J L, QI Y, et al. 17 beta-estradiol modulates local cardiac renin-angiotensin system to prevent cardiac remodeling in the DOCA-salt model of hypertension in rats[J]. *Peptides*, 2009, 30(12): 2309-2315.
- [8] ROBERTS M A, VELKOSKA E, IERINO F L, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 activity in patients with chronic kidney disease[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, 28(9): 2287-2294.
- [9] SAMPSON A K, MORITZ K M, DENTON K M. Postnatal ontogeny of angiotensin receptors and ACE2 in male and female rats[J]. *Genet Med*, 2012, 9(1): 21-32.
- [10] PENDERGRASS K D, PIRRO N T, WESTWOOD B M, et al. Sex differences in circulating and renal angiotensins of hypertensive mRen(2). Lewis but not normotensive Lewis rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(1): H10-H20.
- [11] BROSNIHAN K B, LI P, GANTEN D, et al. Estrogen protects transgenic hypertensive rats by shifting the vasoconstrictor-vasodilator balance of RAS[J]. *Am J Physiol*, 1997, 273(6 Pt 2): 1908-1915.
- [12] GROBE J L, KATOVICH M J. Alterations in aortic vascular reactivity to angiotensin 1-7 in 17-beta-estradiol-treated female SD rats[J]. *Regul Pept*, 2006, 133(1-3): 62-67.

(收稿日期: 2015-11-20)

(上接第 140 页)

- [11] CHUNG S, YANG J H, CHOI S H, et al. Transradial versus transfemoral intervention for the treatment of left main coronary bifurcations: results from the COBIS (COronary Bifurcation Stenting) II Registry [J]. *J Invasive Cardio*, 2015, 27(1): 35-40.
- [12] CONSTANTINIDES S S, BARBERIS V I, MITSELOS L. Transradial primary percutaneous intervention in a rare case of anomalous origination of the left coronary artery system from the right aortic sinus[J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2014, 7(11): e179-e181.
- [13] LIU J, FU X H, XUE L, et al. A comparative study of transulnar and transradial artery access for percutaneous coronary intervention in patients with acute coronary syndrome [J]. *J Interv Cardiol*, 2014, 27(5): 525-530.

(收稿日期: 2015-08-03)