

老年 Dahl 盐敏感大鼠盐诱导高血压发病机制的研究

孟婷婷^{1,2} 马怀芬¹ 高祎凡¹

1. 西安培华学院, 中国·陕西 西安 710125

2. 西安交通大学, 中国·陕西 西安 710061

摘要: **目的:** 探讨过量盐摄入对老年 Dahl 盐敏感大鼠高血压形成的影响, 并阐述其血压升高的机制。**方法:** 选取健康雄性 Dahl 盐敏感大鼠和 SS.13BN 大鼠共 32 只, 鼠龄 50 周+, 体重 330 ± 10 g, 各分为高盐饮食组 (含 8% 氯化钠)、正常盐饮食组 (含 0.4% 氯化钠)。本实验采用无创大鼠尾动脉监测系统测量每组大鼠血压变化, 高盐饮食喂养持续 5 周后, 采用水合氯醛 (300mg/kg) 腹腔麻醉大鼠, 然后处死大鼠取肾脏组织, 并分离肾皮质和肾髓质部分, 对肾脏组织进行 PAS 和天狼猩红染色, 同时测定肾组织中 NO 含量及相关酶活测定。**结果:** 5 周高盐饮食后, 老年 DSS 大鼠的 MAP 升至约 136mmHg, 较正常盐组升高了约 20mmHg, SBP 则升至约 173mmHg, 较 SS-NS 组升高了约 31mmHg。老年 DSS 大鼠肾脏组织 PAS 染色阳性面积显著升高。肾脏皮质中 NO 含量有降低趋势但无统计差异, 髓质中无显著变化。老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠肾脏皮质和髓质中 NOS 活性均无显著影响, 但老年 DSS 大鼠肾脏髓质中 NOS 活性显著低于 SS.13BN 大鼠。**结论:** 长期高盐诱导的影响盐敏感高血压大鼠血压, 其机制可能与改善肾脏的纤维化以及 NO 水平及 NOS 酶活性有关。

关键词: 老年; Dahl 盐敏感大鼠; 盐诱导; 高血压

Research on Pathogenesis of Salt-induced Hypertension in Elderly Dahl Salt-sensitive Rats

Tingting Meng^{1,2} Huaifen Ma¹ Yifan Gao¹

1. Xi'an Peihua University, Xi'an, Shaanxi, 710125, China

2. Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China

Abstract: Objective: To investigate the effect of excessive salt intake on the formation of hypertension in elderly Dahl salt-sensitive rats, and to elucidate the mechanism of blood pressure increase. **Methods:** A total of 32 healthy male Dahl salt-sensitive rats and SS.13BN rats, aged 50 weeks and weighing 330 ± 10 g, were divided into high-salt diet group (containing 8% sodium chloride) and normal salt diet group (containing 0.4% sodium chloride). In this experiment, the non-invasive rat tail artery monitoring system was used to measure the blood pressure changes of each group of rats, and after high-salt diet feeding lasted for 5 weeks, the rats were anesthetized intraperitoneally with chloral hydrate (300mg/kg), and then the rats were sacrificed to take kidney tissue, and the renal cortex and renal medulla were separated, and the kidney tissue was stained with PAS and wolf scarlet, and the NO content and related enzyme activity in the kidney tissue were measured at the same time. **Result:** After 5 weeks of high-salt diet, the MAP of the elderly DSS rats increased to about 136 mmHg, which was about 20 mmHg higher than that of the normal salt group, and the SBP increased to about 173 mmHg, which was about 31 mmHg higher than that of the SS-NS group. The positive area of PAS staining in kidney tissue of elderly DSS rats was significantly increased. There was a decreasing trend of NO content in the renal cortex but no statistical difference, and there was no significant change in the medulla. There was no significant effect on NOS activity in the renal cortex and medulla of elderly DSS and SS.13BN rats, but the activity of NOS in the renal medulla of elderly DSS rats was significantly lower than that of SS.13BN rats. **Conclusion:** The mechanism of long-term high salt induction on blood pressure in salt-sensitive hypertensive rats may be related to the improvement of renal fibrosis, NO level and NOS enzyme activity.

Keywords: elderly; Dahl salt-sensitive rats; salt-induced; hypertension

0 前言

高血压是一种常见的复杂疾病, 具有较高的患病率, 是全球心血管疾病 (CVD) 和死亡的主要原因。长期高血压是冠状动脉疾病、中风、心力衰竭、外周动脉疾病和慢性肾脏疾病等许多疾病的主要独立风险因素^[1], 中国高血压患

病率由南方到北方递增, 男性患病率高于女性, 同时农村地区高血压患病率已经从 13.3% (1991 年) 升高至 27.4% (2015 年), 可能与北方年平均气温较低以及北方人群盐摄入量较高有关^[2]。

高血压是一种具有多因素病因的高度异质性疾病。在

过去十多年中,中国经济的快速增长伴随着不健康生活方式的增多,尤其是膳食钠摄入量的增加,成为中国高血压患病率增加的一个重要因素,其中 51% 的高血压患者属于盐敏感高血压^[3]。流行病学证据和临床干预研究表明,高盐膳食是高血压的关键危险因素。肾脏能够迅速适应每日盐摄入量的变化,对于大多数人来说,盐摄入量的增加只会导致动脉压轻微和短暂的上升。然而,肾脏对不同盐摄入量的适应能力因人而异,有的人高盐饮食后血压大幅上升,这种现象被称为血压的盐敏感性。世界卫生组织建议成年人每天的盐摄入量应少于 5 克^[4],根据《中国高血压防治指南》,中国建议每天钠摄入量应低于 2.4g (约 6g 盐)。然而,中国城乡居民的平均盐摄入量 (10.50g/天/人) 远高于 WHO 建议的 5g/天/人的标准。长期高盐饮食还会让盐分积累在血管壁上,导致动脉硬化、加粗,从而进一步增加了高血压的风险。

高血压患者的 CVD 发病率和死亡率更高,并且盐敏感的血压正常个体 CVD 发病率和死亡率也高于盐不敏感的血压正常个体。一些试验发现,适度降低膳食盐 (减少 1~3g) 可以显著减少心血管事件,改善公共卫生,同时为医疗保健服务节省大量成本。盐敏感性是患有收缩期或收缩-舒张期高血压的老年人群、早期高血压人群、黑人个体以及患有典型代谢综合征的肥胖人群的常见特征^[5]。Dahl 和 Heine 通过肾脏移植实验研究发现,用盐敏感大鼠的肾脏替换耐盐大鼠的肾脏会诱发盐敏感高血压,而用耐盐大鼠的肾脏替换盐敏感大鼠的肾脏能够降低血压^[6]。这些实验都表明血压的盐敏感性“跟随”肾脏,明确了肾脏在血压调节中的核心作用。肾脏是盐敏感高血压形成的靶器官,肾脏通过调节盐和水的排泄,并通过多种神经激素机制控制周围血管张力,这在控制动脉血压方面起着关键作用。

随着年龄的增长,生理功能出现正常地、持续地衰退,这是自然衰老的过程,年龄增长导致生理衰退和疾病风险增加,高血压发病率也有非常明显的增加^[7]。老年群体的大小动脉结构和功能特性均发生改变,包括动脉直径、壁厚、壁硬度和内皮功能^[8]。正常衰老过程相关的生理变化可能会损害肾脏的修复能力,包括高血压在内的系统性疾病会加剧肾脏改变,从而使老年人更容易患急性肾病、慢性肾病和其他肾病,这反过来也会加剧老年人血压升高。

衰老导致生理衰退和疾病风险增加,是导致高血压发生的最重要因素之一,同时高血压是老年人心血管疾病发病率和死亡率的重要危险因素^[9]。预计到 2050 年老年人口将占中国总人口的 30%^[10]。2015 年,中国调查发现高血压患病率随年龄增长而增加,45 岁以上人群的高血压患病率为 34.38%, ≥ 60 岁老年人群为 54.92%, 80 岁以上的高龄老年人群为 56.5%, ≥ 65 岁定义为老年高血压,特点是 SBP 增高,脉压增大,多表现为单纯收缩期高血压 (SBP ≥ 140mmHg 且 DBP < 90mmHg)^[11]。但是,也有研究表示大多数高收入和中等收入国家的人群中,血压随着年龄而升高,可能

是由于血压对膳食盐的敏感性增加。在低盐饮食的南美洲 Yanomami 人中未观察到与衰老相关的血压升高,这可能表明衰老引起的血压升高与膳食盐密切相关^[12]。

1 材料和方法

1.1 实验动物与分组

选取 50 周龄,体重约为 330g 的雄性大鼠。根据称重体重随机分为 2 组,即实验组 and 对照组,具体分组如下:SS 大鼠分高盐饮食组 (含 8% 氯化钠)、正常盐饮食组 (含 0.4% 氯化钠)。实验动物在 SPF 级实验室饲养,繁殖生长,温度为 20℃,湿度为 50 ± 5%。每天 12h 光照/黑暗交替,整个实验过程中自由饮水摄食,定期更换无菌垫料,保持笼内清洁卫生。所有动物实验方案均得到西安交通大学动物伦理委员会的批准 (批准号 XJTUSLST-2017-02),并符合 GB/T35892—2018《实验动物福利伦理审查指南》。

1.2 大鼠尾动脉平均动脉压测量

使用 CODA 大鼠高通量无创血压采集系统测定实验大鼠的血压,此系统是一种尾套 (tail-cuff) 方法,禁锢袖套 (occlusion cuffs) 放置在大鼠尾根部,在充气时完全阻断鼠尾部的血流,VPR 传感器测量放气时鼠尾容积的变化。放气过程中 VPR 传感器检测到鼠尾容积开始变化时鼠尾的压力为 SBP,随着放气的进行,鼠尾静脉开始有回血流时,记录为 DBP,而 MAP 由 SBP 和 DBP 的值确定,MAP=(SBP+2×DBP)/3。

1.3 肾组织收集

使用 10% 水合氯醛 (300mg/kg) 腹腔注射麻醉,开胸腔和腹腔,再用预冷的生理盐水低速心脏灌注,置换出肾脏中的血液后收取组织样本。将四分之一肾脏组织用 4% 多聚甲醛固定,4℃ 保存,用于后续蜡块包埋,剩下部分立即分离皮质和髓质,放入液氮,置于 -80℃ 冰箱保存。

1.4 肾脏组织 NO 含量及相关酶活测定

肾脏组织中 NO 含量测定使用南京建成的试剂盒,操作步骤按照说明书进行。肾脏组织中 ALT、AST 和总 NOS (TNOS) 活性使用南京建成试剂盒检测,GDH 活性使用索莱宝试剂盒测定。所有操作步骤均按照对应试剂盒说明书进行。

1.5 统计学方法

本研究采用 GraphPad Prism 10 软件 (版本 10.1.2) 进行数据的统计学处理及可视化呈现。实验数据以均值 ± 标准误 (Mean ± SEM) 形式呈现,统计显著性判定标准设定为: p < 0.05 (显著性差异), p < 0.01 (极显著性差异)。

2 结果

2.1 血压的变化

高盐饮食一周后,老年 DSS 大鼠的 MAP 和 SBP 开始缓慢升高,SS.13BN 大鼠则没有显著变化。5 周高盐饮食后,老年 DSS 大鼠的 MAP 升至约 136mmHg,较正常盐组升高

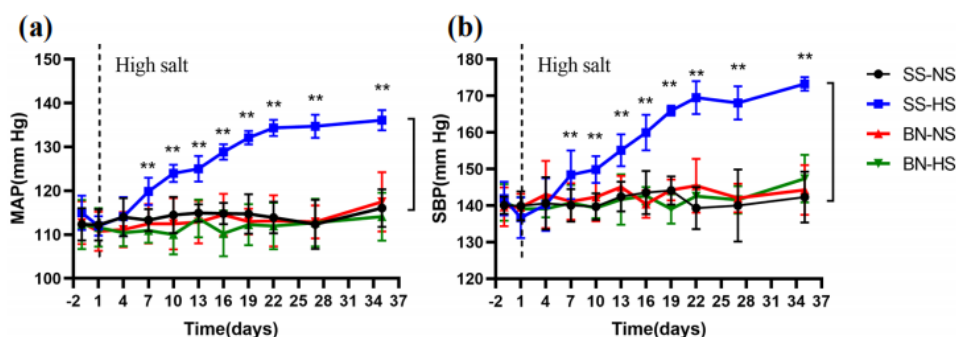
了约 20mmHg, SBP 则升至约 173mmHg, 较 SS-NS 组升高了约 31mmHg。结果表明, 高盐饮食引起了 DSS 大鼠血压的升高, 而且对 SBP 的升压作用更显著 (见图 1)。

2.2 高盐对肾脏组织的病理性改变

对肾脏组织进行 PAS 和天狼猩红染色。PAS 染色中深紫色为阳性, 表示肾小球硬化程度。如图 2 所示, 5 周高盐

饮食后, 老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠 PAS 染色阳性面积显著升高。天狼猩红染色中红色为阳性, 代表肾脏纤维化程度。结果表明高盐饮食加剧了老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠的肾损伤程度。

PAS 染色和天狼猩红染色, 其中 PAS 染色中深紫色代表阳性, 天狼星红染色中红色为阳性。



(a) 平均动脉压 (MAP) (b) 收缩压 (SBP)

图 1 高盐饮食对老年盐敏感大鼠血压的影响

注: 结果表示为 Mean ± SEM, *p < 0.05 和 *p < 0.01 为 SS-NS 和 SS-HS 组间的比较。

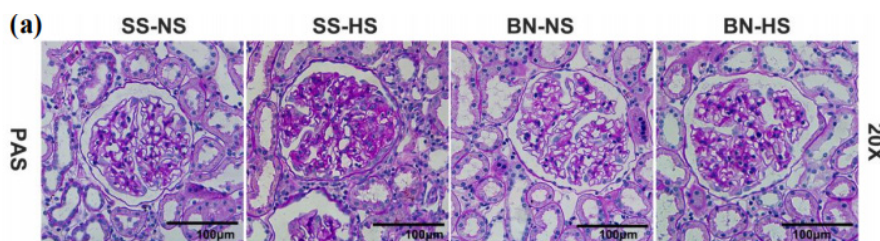


图 2 高盐诱导老年 DSS 大鼠肾脏组织发生病理改变

2.3 肾脏组织中 NO 水平的变化

NO 是内源性血管舒张剂, 由于其极短的半衰期, 我们通过检测其氧化分解产物亚硝酸盐和硝酸盐的含量, 间接确定血清和肾脏组织中 NO 水平的变化。如图 3 所示, 高盐饮食后, 老年 DSS 大鼠肾脏皮质中 NO 含量有降低趋势但无统计差异, 髓质中无显著变化。

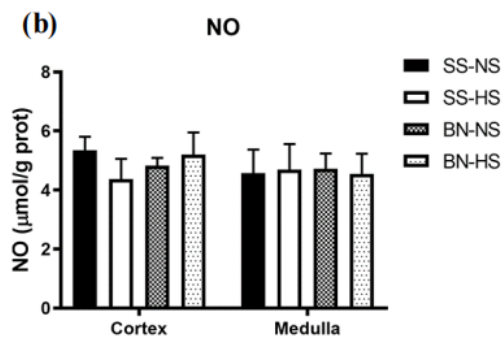


图 3 老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠高盐前后肾脏组织 NO 含量

结果表示为 Mean ± SD, n=8; * 表示 DSS 大鼠或者 SS.13BN 大鼠正常盐和高盐之间比较, # 表示正常盐或者高盐饮食时 DSS 大鼠和 SS.13BN 大鼠之间的比较。

2.4 高盐对老年大鼠 NO 合成相关酶活性的影响

NOS 催化精氨酸生成 NO, 其活性影响内源性 NO 的产生, 因此我们测定了肾脏组织中总 NOS 活性的变化。如图 4 所示, 高盐对老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠肾脏皮质和髓质中 NOS 活性均无显著影响, 并且老年 DSS 大鼠肾脏髓质中 NOS 活性显著低于 SS.13BN 大鼠。

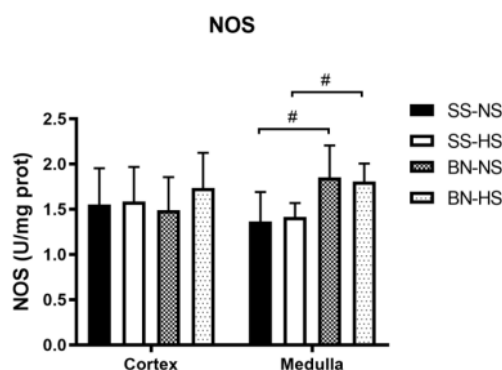


图 4 老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠高盐前后肾脏组织中总一氧化氮合酶 (NOS) 活性变化

结果表示为 Mean ± SD, n=8; * 表示 DSS 大鼠或者

SS.13BN 大鼠正常盐和高盐之间比较, # 表示正常盐或者高盐饮食时 DSS 大鼠和 SS.13BN 大鼠之间的比较; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ 。

3 讨论

根据本研究的实验结果可得出以下重要结论: ①长期高盐饮食可导致老年 Dahl 盐敏感大鼠内源性 NO 的降低, 血压升高。②长期高盐饮食可致老年 Dahl 盐敏感大鼠肾小球硬化程度增加, 肾脏纤维化程度加深, 导致肾脏水盐排泄能力减弱。③长期高盐诱导老年 Dahl 盐敏感大鼠 NO 合成相关酶活性降低, 可能与其衰老后肾功能受损有关, 这直接影响血管舒张性降低。虽然老年 SS.13BN 大鼠肾脏中精氨酸含量显著高于 DSS 大鼠, 但是其肾脏中 NO 的含量并没有显著高于 DSS 大鼠, 可能是由于相对而言老年大鼠肾脏中的氨基酸保持在较低水平。

老年 DSS 大鼠在给予高盐饮食后 MAP 和 SBP 均显著升高, 并且 SBP 具有更大的增幅, 老年 SS.13BN 大鼠在高盐饮食下血压没有显著变化。在正常衰老状态下, 老年 DSS 大鼠肾小球硬化以及间质纤维化程度显著高于老年 SS.13BN 大鼠, 表现出更严重的肾损伤状态。高盐饮食后加剧了老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠的肾损伤, 并且高盐对 DSS 大鼠肾脏结构和功能具有更大影响。Potter 等也发现 DSS 大鼠与盐不敏感的 SS.BN1 大鼠相比高盐饮食后表现出更明显的盐敏感高血压以及肾损伤等^[13]。很显然, DSS 大鼠对盐诱导肾损伤的易感性并没有随着年龄的增加而减轻。随着年龄的增长, 主动脉壁变厚失去弹性使动脉僵硬度增加, SBP 和脉压随着动脉僵硬度增加而升高^[14], 我们测得老年 DSS 大鼠高盐饮食后 SBP 增幅大于 MAP 可能正是由于衰老后动脉僵硬度增加而导致的。

老年 DSS 和 SS.13BN 大鼠肾脏中 NO 含量没有显著差异, 可能是由于老年大鼠氨基酸处于较低水平。此外, 高盐饮食后不论是 NO 含量还是其前体氨基酸水平均没有显著变化。随着年龄的增长, NO 尤其是内皮源性 NO 的合成或生物利用度降低, 内皮功能逐渐下降, Egashira 等发现与年轻的 20 岁个体相比, 70~80 岁的患者内皮源性一氧化氮损失了近 75%^[15], 内皮依赖的血管扩张随着年龄的增长而逐渐下降^[16]。可能正是由于内源性 NO 和内皮功能随年龄增长而降低, 所以过量盐刺激后 NO 水平变化反而较小。

参考文献:

- [1] Arnett DK, Claas SA. Omics of blood pressure and hypertension[J]. *Circ Res*,2018,122(10):1409-1419.
- [2] 张梅,吴静,张笑,等.2018年中国成年居民高血压患病与控制状况研究[J].*中华流行病学杂志*,2021,42(10):1780-1789.
- [3] Wang Z, Chen Z, Zhang L, et al. Status of hypertension in China: results from the China hypertension survey, 2012—2015[J]. *Circulation*,2018,137(22):2344-2356.
- [4] Zhou B, Perel P, Mensah GA, et al. Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension[J]. *Nat Rev Cardiol*,2021,18(11):785-802.
- [5] Yan Y, Wang J, Chaudhry MA, et al. Metabolic syndrome and salt-sensitive hypertension in polygenic obese TALLYHO/JngJ Mice: role of Na/K-ATPase signaling[J]. *Int J Mol Sci*,2019,20(14):3495-3513.
- [6] Patschan O, Kuttler B, Heemann U, et al. Kidneys from normotensive donors lower blood pressure in young transplanted spontaneously hypertensive rats[J]. *Am J Physiol*,1997,273(1 Pt 2):175-180.
- [7] Pinto E. Blood pressure and ageing[J]. *Postgrad Med J*,2007,83(976):109-114.
- [8] Lee JH, Kim KI, Cho MC. Current status and therapeutic considerations of hypertension in the elderly[J]. *Korean J Intern Med*,2019,34(4):687-695.
- [9] Pinto E. Blood pressure and ageing[J]. *Postgrad Med J*, 2007,83(976):109-114.
- [10] Chen Z, Yu J, Song Y, et al. Aging Beijing: challenges and strategies of health care for the elderly[J]. *Ageing Res Rev*,2010,9 Suppl 1(S2-5).
- [11] 马丽媛,王增武,樊静,等.《中国心血管健康与疾病报告2021》关于中国高血压流行和防治现状中国全科医学[J].2022,25(30):3715-3720.
- [12] Kawarazaki W, Fujita T. Kidney and epigenetic mechanisms of salt-sensitive hypertension[J]. *Nat Rev Nephrol*,2021,17(5):350-363.
- [13] Potter JC, Whiles SA, Miles CB, et al. Salt-Sensitive Hypertension, Renal Injury, and Renal Vasodysfunction Associated With Dahl Salt-Sensitive Rats Are Abolished in Consomic SS.BN1 Rats[J]. *J Am Heart Assoc*,2021,10(21):e020261.
- [14] Safar M, Laurent S, Safavian A, et al. Sodium and large arteries in hypertension. Effects of indapamide[J]. *Am J Med*, 1988,84(1B):15-19.
- [15] Egashira K, Inou T, Hirooka Y, et al. Effects of age on endothelium-dependent vasodilation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans[J]. *Circulation*,1993,88(1):77-81.
- [16] Gerhard M, Roddy MA, Creager SJ, et al. Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans[J]. *Hypertension*,1996,27(4):849-853.

作者简介: 孟婷婷, 硕士, 副教授, 从事基础医学病理生理学研究。

课题项目: 2023 年西安培华学院校级科研项目《盐皮质激素受体 (MR) 在 Dahl 盐敏感老年大鼠高血压发病机制中的作用研究》, 项目编号: PHKT2305。