

文章编号 1006-8147(2018)02-0106-06

论 著

机械加载对高血压大鼠心血管及肾脏损伤的疗效观察

郭嘉露¹, 李心乐^{1,2}, 李新¹, 吕子成¹, 张玮¹, 刘大全^{1,2}, 张平^{1,2}

(1. 天津医科大学人体解剖与组织胚胎学系, 天津 300070; 2. 泰达国际心血管病医院再生医学中心, 天津 300457)

摘要 目的:探究机械加载对高盐高脂诱导的高血压大鼠的血压及血管、心脏和肾脏的影响。方法:采用高盐高脂饮食方法,建立高血压大鼠模型,给予机械加载治疗。检测治疗后大鼠体质量、体脂含量、BMI、血压值,HE染色观察血管、心脏和肾脏损伤程度。结果:机械加载治疗后高盐高脂大鼠的收缩压、舒张压和平均尾动脉压显著低于造模组,胸主动脉血管壁面积、血管壁厚度、血管壁/血管腔比值、心室指数、心室壁厚度、心肌细胞面积和肾间质炎性细胞数含量较造模组均显著降低。结论:机械加载可以降低高盐高脂高血压大鼠的血压,同时可以改善高血压导致的血管、心脏和肾脏损伤。

关键词 机械加载;高盐高脂;高血压;血管;心脏;肾脏;大鼠

中图分类号 R544.1

文献标志码 A

Effect of mechanical loading on the angiopathy and kidney damage in hypertensive rats

GUO Jia-lu¹, LI Xin-le^{1,2}, LI Xin¹, LÜ Zi-cheng¹, ZHANG Wei¹, LIU Da-quan^{1,2}, ZHANG Ping^{1,2}

(1. Department of Anatomy and Histology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Centre for Regenerative Medicine, TEDA International Cardiovascular Hospital, Tianjin 300457, China)

Abstract Objective: To investigate the effects of mechanical loading on high blood pressure, as well as the injury of blood vessels, heart and kidney of hypertensive rats, which induced by high-sodium and high-fat. **Methods:** Hypertensive rats were prepared by fed with high-salt and high-fat diet. After mechanical loading, the body weight, body fat content, BMI and blood pressure were measured. The injury and loading effect of blood vessels, heart and kidney were evaluated by HE staining. **Results:** The blood pressure of loading group was significantly lower than that of the high-sodium and high-fat group. The I-M (intima-mesolamella) cross sectional area, I-MT (intima-mesolamella thickness), I-MT/lumen diameter, HW (mg)/tibia length (mm) (heart weight/tibia length), ventricular wall thickness, cardiomyocyte area and renal interstitial inflammatory cells were significantly decreased after mechanical loading. **Conclusion:** Mechanical loading could reduce high blood pressure and improve the damage of blood vessels, hearts and kidneys caused by high-sodium and high-fat hypertension.

Key words mechanical loading; high-sodium and high-fat; hypertension; vessel; heart; kidney; rats

高血压是常见的慢性疾病之一,2016年我国高血压发病率为32.5%^[1],其引发的心、脑血管及肾脏损伤严重影响着高血压患者的预后。目前高血压的治疗强调生活方式改变与药物治疗相结合,二者缺一不可。研究表明有氧运动不仅可以减少药物所需剂量,而且有助于降低高血压患者和大鼠的血压水平^[2-4]。我们自主研发的脉冲式机械加载是模拟主动有氧运动的物理康复疗法。前期工作报道,机械加载通过对滑膜关节和骨产生机械应力作用达到机体主动物理运动的效果,已经证实

其在一定程度上可以降低机体的炎症反应,并调节骨代谢、促进骨折的愈合^[5-6]。我们实验室的近期实验还表明,机械加载可以有效地改善高脂饮食导致的肥胖和脂肪肝(数据待发表)。但有关机械加载改善高盐高脂导致的高血压大鼠血压以及脏器损伤的作用未见报道。本研究通过建立高盐高脂诱发的高血压大鼠模型,比较分析治疗前后大鼠体质量、体脂含量、BMI、血压变化及血管、心脏、肾脏损伤指标,探索机械加载对高血压及心脏、血管、肾脏损伤的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物 健康雌性SD大鼠50只,6周龄,体质量200g左右,购于中国人民解放军军事医学科学院动物中心,其饲养和管理遵守天津医科大学动物实验动物管理规定,本研究经天津医科大学伦理委员会批准。

基金项目 国家自然科学基金资助项目(81572100,81772405,81601863);天津滨海新区卫生计生委科技资助项目(2016BWK002,2016BWK005)

作者简介 郭嘉露(1991-),女,硕士在读,研究方向:从事机械加载与心血管疾病的研究;通信作者:张平,E-mail:pizhang2008@163.com。

1.2 主要仪器和试剂 BP-100A 全自动无创血压测量仪购自四川成都泰盟有限公司。机械加载仪器采用我们自主研发并制作的产品(已经获得中国专利批准)。其他设备和材料包括:高盐高脂纯化饲料(北京华阜康有限公司)、ImpediVET 实验动物体组成测定分析仪采用我们自主研发并制作的产品(已经获得中国专利批准)。其他设备和材料包括:高盐高脂纯化饲料(北京华阜康有限公司)、ImpediVET 实验动物体组成测定分析仪(上海怡耀科学仪器有限公司)、全身骨密度测量仪 XR-600(美国 NORLAND 公司)、RM 2255 轮转式切片机(德国 Leica 公司)、光学显微镜 BX53(日本 OLYMPUS 公司)、SF-400 电子称(永康市转金工贸有限公司)、电子天平(美国 Mrttler Toledo 公司)。

1.3 方法

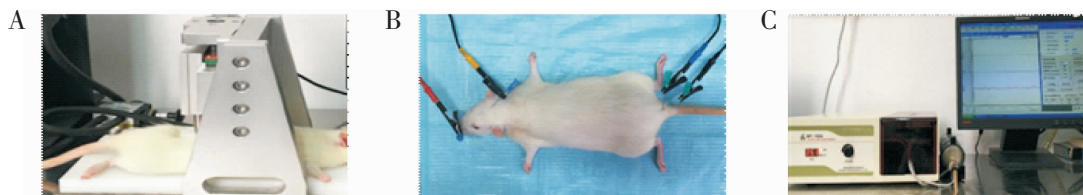
1.3.1 分组和处理 普通饮食喂养 1 周后,50 只 SD 雌性大鼠随机分为对照组 10 只、研究组 40 只。研究组给与 32%kcal fat、8%NaCl 的高盐高脂饮食(北京华阜康有限公司,配方参考 Research diets D12266B),用大小鼠无创尾动脉测压法监测血压

(1次/周),收缩压高于 158 mmHg 为高血压造模成功标准^[7]。6 周后 22 只大鼠造模成功。随机选出高血压大鼠 20 只,采用随机数表法分为高盐高脂模型组和高盐高脂的机械加载治疗组($n=10$)。

1.3.2 机械加载治疗 使用 2% 异氟烷(1.0~1.5 L/min 流量)对治疗组大鼠进行吸入麻醉后,机械加载作用于腰椎关节,设定加载频率为 5 Hz,力度为 2 N,时间 5 min/d,连续加载 6 周(图 1A)。对照组和模型组动物放置在加载平台,仅接受麻醉而不进行机械加载治疗^[8-9]。

1.3.3 实验动物体组成测定分析 实验大鼠麻醉后,采用 ImpediVET 实验动物体组成测定分析仪对实验大鼠进行体成分分析(图 1B)。

1.3.4 无创血压测量 本实验采用 BP-100A 全自动无创血压测量仪测量大鼠安静清醒状态下尾动脉血压。测量前,大鼠 0.5 h 内禁食、禁水,将大鼠置于大鼠固定器,尾部连接传感器和阻断器。将大鼠置于 36~37 °C 恒温环境中,连续测量大鼠尾动脉收缩压、舒张压、平均尾动脉压 3 次,间隔 60 s,取其平均值(图 1C)。



A.机械加载装置示意图;B.大鼠体成分分析示意图;C.无创尾动脉测量血压示意图

图 1 实验器材

Fig 1 Experimental equipments

1.3.5 取材、组织学观察和分析 大鼠麻醉后,打开胸腔,在心尖处插入灌注针头,同时剪开右心耳,快速均匀的推入肝素生理盐水,待右心耳流出的液体明显变浅,换成 4% 多聚甲醛灌注,大约需要 400~500 mL。灌注固定后迅速获取心脏,去除周围大血管,滤纸吸干心脏血液,称取全心湿重。分离胸主动脉段,去除多余组织,用生理盐水冲洗主动脉管腔的残血。分离双侧肾。然后将心脏、胸主动脉段、双侧肾放置 4% 甲醛溶液中固定,48 h 后对心脏、胸主动脉段及双肾进行脱水、透明、石蜡包埋处理,心脏及胸主动脉经横断面制成 3 μ m 连续切片,肾脏经肾门经冠状面制成 3 μ m 连续切片^[10-11],常规 HE 染色。显微镜下观察心脏 HE 染色切片,使用 OLYMPUS cell Sens Standard 软件测量心室壁厚度和心肌细胞的横截面积^[12],以此反映心室重构程度。测定胸主动脉中膜厚度和管腔面积的比值以及血管壁面积,以此反映血管重构程度。此外,在 $\times 200$ 倍镜下计数肾间质

炎症细胞数,反映炎症水平及肾脏损伤程度。

1.5 统计学方法 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS19.0 进行数据统计处理,各组比较采用独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 机械加载降低高盐高脂高血压大鼠的血压 各实验组大鼠收缩压基线水平基本一致,无统计学差异。经高盐高脂喂养 6 周后,大鼠血压达到高血压标准(收缩压持续稳定在 158 mmHg 以上),差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 各实验组大鼠收缩压造模后的比较(mmHg)

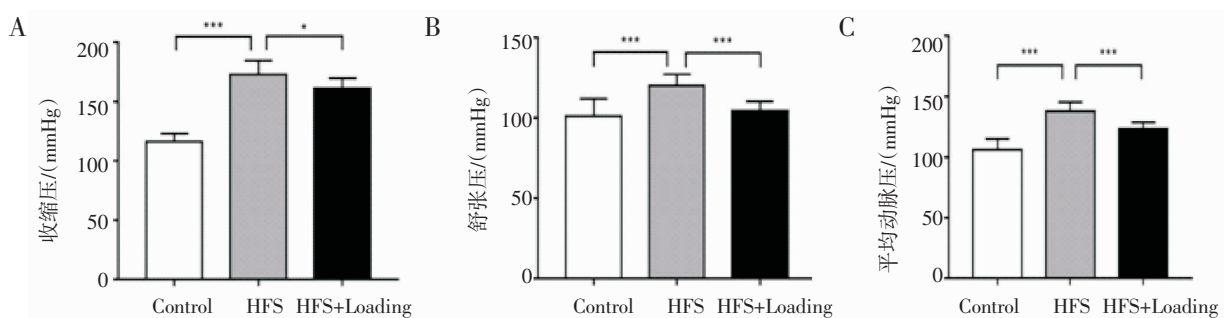
Tab 1 Comparison of the systolic blood pressure after modeling (mmHg)

组别	0 周	6 周
对照组	116.07 \pm 3.40	122.62 \pm 2.76
模型组	115.13 \pm 1.60	169.00 \pm 5.95*
治疗组	113.85 \pm 4.22	166.89 \pm 7.38**

模型组与对照组比较 * $P < 0.05$; 治疗组与模型组比较 ** $P < 0.05$

与对照组相比,模型组大鼠经过12周高盐高脂饮食后血压值明显升高。治疗组大鼠经过6周的机械加载治疗后,血压值与模型组相比有显著

的降低,其中收缩压($P<0.05$)、舒张压($P<0.001$)和平均尾动脉压($P<0.001$)的差异均有统计学意义(图2)。



* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

A.收缩压;B.舒张压;C.平均尾动脉压。Control:对照组;HFS:高盐高脂模型组;HFS+Loading:机械加载治疗组

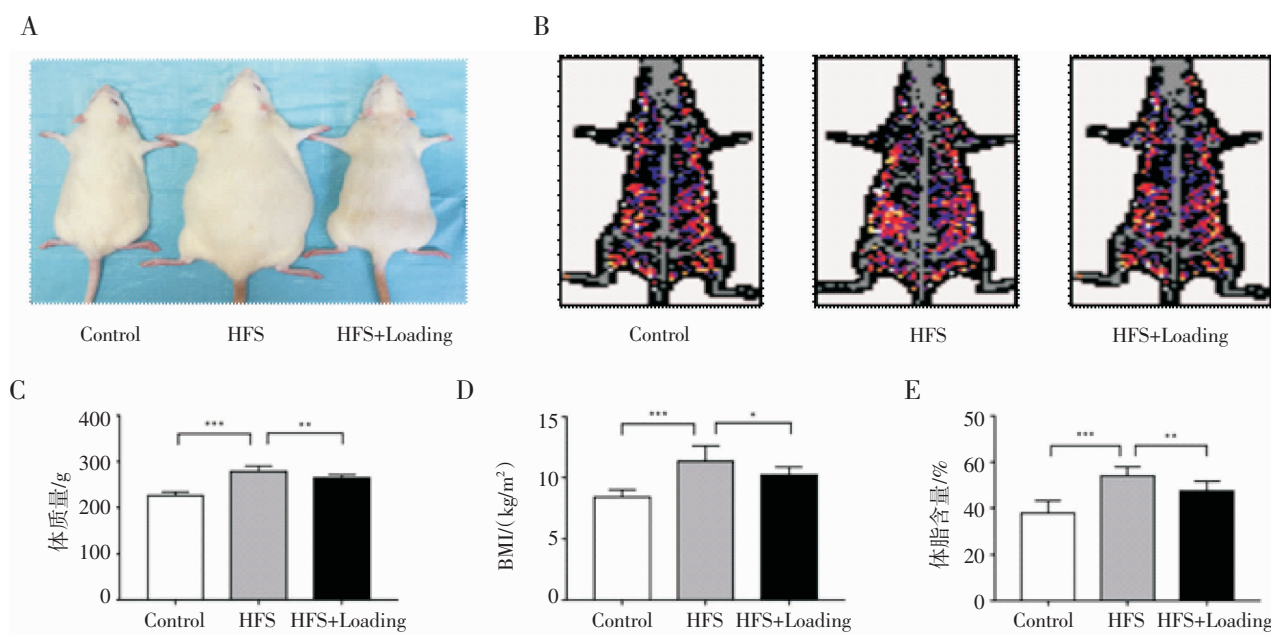
图2 各组大鼠机械加载治疗后血压的变化

Fig 2 Changes of blood pressure after mechanical loading

2.2 机械加载降低高盐高脂高血压大鼠的体质量、BMI值、体脂含量 高盐高脂模型组大鼠饲养12周后表现为体态肥胖,机械加载治疗组大鼠体型基本恢复正常(图3A)。全身骨密度仪扫描的体脂含量图(黄色、橙色、蓝色、紫色、黑色等颜色越浅,表明脂肪含量越高,图3B)表明,模型组的脂肪含量明显增加,机械加载治疗后大鼠脂肪含量降低。大鼠体质量和体成分分析证实,经高盐高脂喂养12周后,大鼠体质量、BMI、体脂含量均显著增高,有统计

学意义(均 $P<0.001$);经机械加载治疗后大鼠体质量($P<0.01$,图3C)、BMI($P<0.05$,图3D)、体脂含量($P<0.01$,图3E)均显著降低。

2.3 机械加载改善高血压导致的胸主动脉病理进程 高盐高脂饲养12周后,模型组大鼠胸主动脉血管壁明显增厚,血管壁面积增加,管腔狭窄,动脉壁中层平滑肌细胞肥大,排列紊乱,血管壁与血管管腔的比值增大。机械加载治疗后,上述血管指标显著改善(图4)。

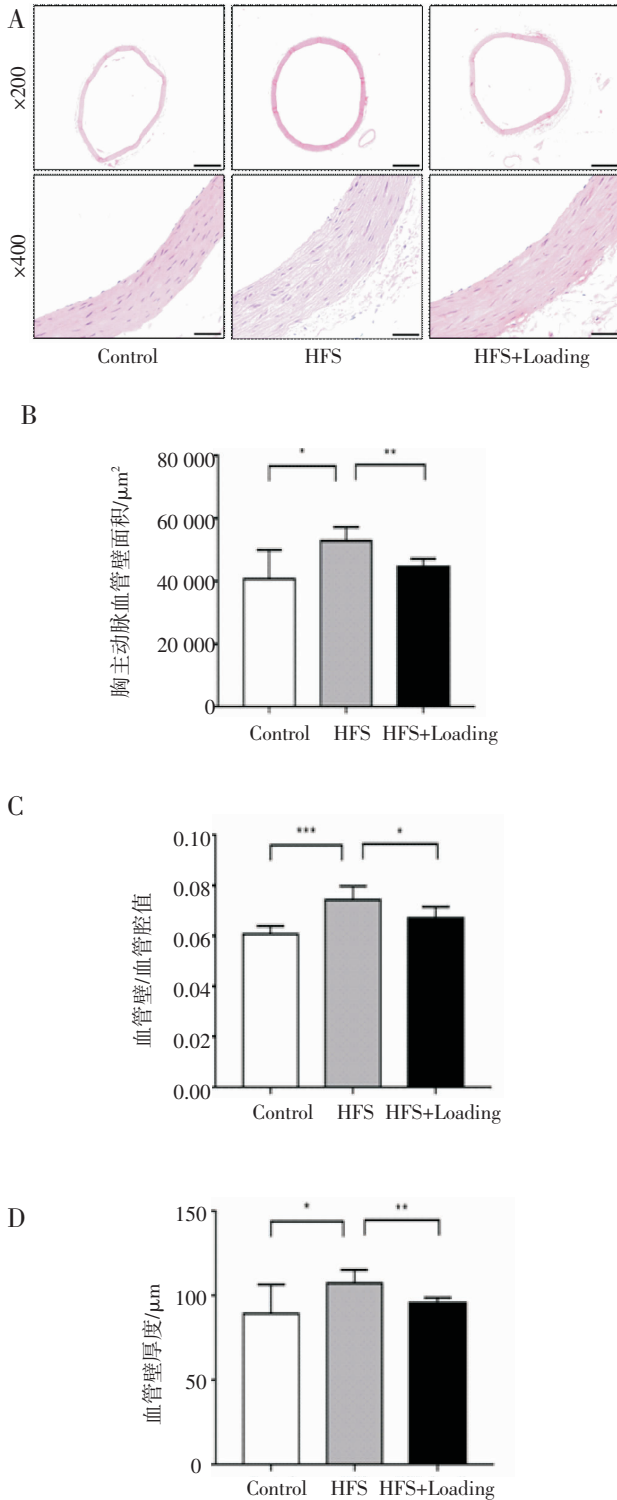


* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

A.大鼠形态图;B.大鼠骨密度仪扫描体脂含量图;C.大鼠体质量;D.BMI;E.体脂含量

图3 大鼠体质量、体脂含量、BMI的改变

Fig 3 Changes of body weight, body fat content, and BMI



* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

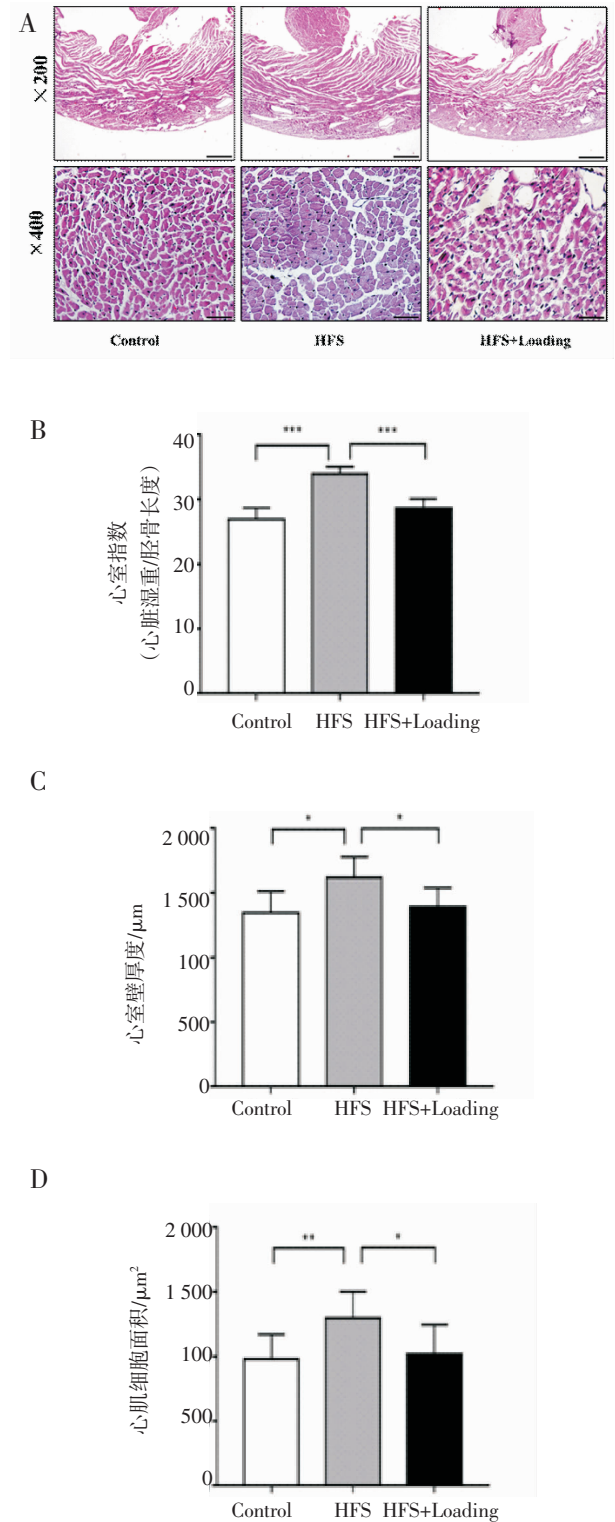
A.胸主动脉段 HE 染色($\times 200, \times 400$); B.胸主动脉血管壁面积; C.血管壁/血管腔值; D.血管壁厚度

图4 各组大鼠血管组织学变化

Fig 4 Histological changes in blood vessels

2.4 机械加载改善高血压导致的心室重构 高盐高脂饲养 12 周后,与对照组相比,模型组心室指数显著增加($P<0.001$)。机械加载治疗 6 周后,心室指数明显降低($P<0.001$)。与对照组相比,高盐高脂模

型组心肌细胞增殖、肥大、心室壁增厚,发生了心室重构。机械加载治疗后,上述心室重构的病理变化指标减轻,且均有显著性差异($P<0.05$)(图 5)。



* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

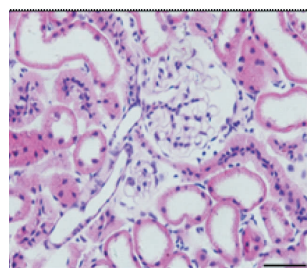
A.心脏横切面 HE 染色($\times 200, \times 400$); B.心室指数(心脏湿重/胫骨长度); C.心室壁厚度; D.心肌细胞面积

图5 各组大鼠心脏组织学变化

Fig 5 Histological changes of hearts

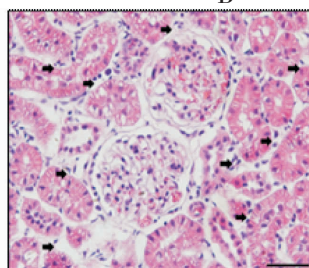
2.5 机械加载改善肾脏的炎症反应 高盐高脂饲养12周后,模型组与对照组相比肾间质有大量炎症细胞浸润。经6周机械加载后,治疗组肾炎症细胞浸润程度较造模组减轻,有显著的统计学差异($P<0.001$)(图6)。

A

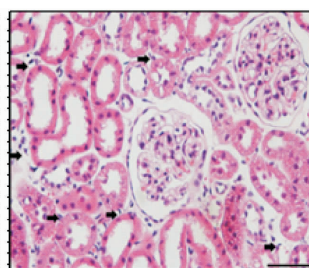


Control

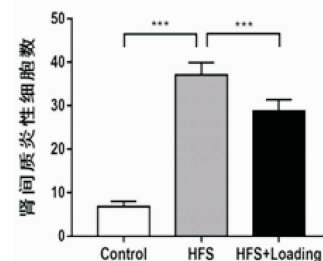
B



HFS



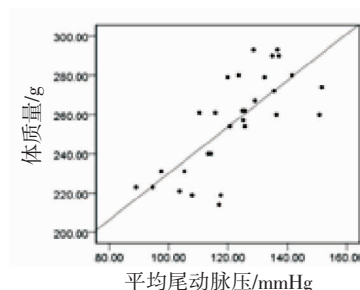
HFS+Loading



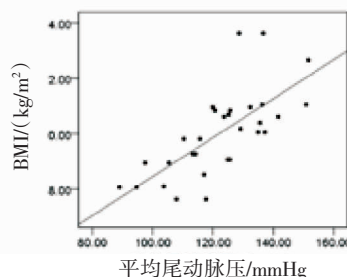
*** $P<0.001$ A.肾脏组织学 HE 染色(×400),箭头所示肾间质炎症细胞;B.肾炎症细胞数

图6 各组大鼠肾脏组织学改变

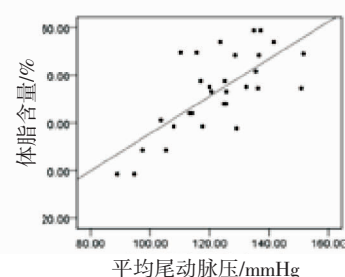
Fig 6 Renal histological changes



平均尾动脉压/mmHg



平均尾动脉压/mmHg



平均尾动脉压/mmHg

图7 大鼠平均尾动脉压与体重、BMI、体脂含量的相关性分析

Fig 7 Analysis of correlations between mean tail artery pressure and body weight, BMI and body fat content

3 讨论

本研究中实验大鼠经过6周高盐高脂饮食,收缩压在158 mmHg以上,作为高血压造模成功标准^[7]。随后,对高血压大鼠进行了机械加载治疗。本研究结果显示,机械加载有效降低了高盐高脂高血压大鼠的血压水平,并且减缓了高血压大鼠的体重、BMI和体脂的增长。机械加载治疗后高血压大鼠血管壁增厚、管腔直径和面积缩小、管壁厚度与管径之比增加等血管重构指标较模型组都有显著效果。心室指数 HW (mg)/tibia length (mm) (心脏湿重/胫骨长度)可用来反映心脏肥大的程度,心室重构是高血压的重要病理变化。机械加载治疗后心室壁肥厚和心肌细胞肥大等心室重构指标较模型组也有显著疗效。此外,机械加载不但改善高血压大鼠心血管的重构,而且对肾脏损伤有一定的修复作用,治疗组大鼠肾脏炎症细胞浸润水平较模型组降低。本实验证实,机械加载对高盐高脂高血压大鼠有明显的降压疗效,并且在一定程度上延缓了高血

2.6 相关性分析 通过对平均尾动脉压与体重、BMI、体脂含量进行的相关性分析表明,平均尾动脉压与体重($r=0.74, P<0.001$)、BMI($r=0.70, P<0.001$)、体脂含量($r=0.72, P<0.001$)成正相关(图7)。

压导致的重要靶器官的损伤。

随着生活水平的提高,人们的饮食习惯也发生了改变,高血压已成为我国常见的慢性疾病之一,其造成的并发症严重影响到人们的身体健康。心脏、血管以及肾脏是高血压损伤常见的组织和靶器官。长期的高盐高脂饮食引起的血脂、血糖及血压的升高,造成心肌负荷增加和心肌损伤^[13]。同时,高盐饮食会进一步增强高脂所致的动脉粥样硬化作用,血管内皮损伤程度加重,表现为血管壁增厚和管腔的狭窄。肾脏则是高血压损伤的主要靶器官,同时也是调节血压变化的重要组织器官,肾脏损伤会进一步加剧血压升高,导致恶性循环。本课题的高盐高脂饲养,成功地诱导了实验动物的高血压和心脏、血管、肾脏的损伤。

目前,高血压康复的常规治疗方法是联合用药,但药物治疗存在较多的副作用,患者依从性差。新型有效的降压方法受到越来越多人的关注,如适当的有氧运动^[14]。有文献报道,全身振动作为一种常

见的机械刺激方式,能显著降低难治性高血压患者的血压^[15-16]。我们自主研发的脉冲性关节加载,是一种低频率、加载强度小的温和机械刺激,通过对滑膜关节进行机械刺激从而产生生物学效应,激活关节代谢相关基因的表达,促进骨的形成^[17-18],在骨折愈合、骨关节炎、骨质疏松的治疗方面已经取得了显著的效果^[5,9]。近期的研究还发现,机械加载可以调动内源性骨髓间充质干细胞,促进血管重建和骨重建^[19]。研究表明,间充质干细胞可以调节心血管的重构,降低肾脏炎症反应^[20-21]。因此我们推测,机械加载可能通过调动内源性干细胞减缓高血压导致的靶器官损伤,但有待于进一步的研究验证。本课题表明,机械加载能够降低高盐高脂高血压大鼠的血压水平,同时延缓高血压导致的心血管及肾脏损伤的进展,为高血压的康复治疗提供了新的思路。

参考文献:

- [1] Lewington S, Lacey B, Clarke R, et al. The burden of hypertension and associated risk for cardiovascular mortality in China[J]. *JAMA Intern Med*, 2016, 176(4): 524
- [2] Zhang Y, Yu X J, Chen W S, et al. Exercise training attenuates renovascular hypertension partly via RAS-ROS-glutamate pathway in the hypothalamic paraventricular nucleus[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37467
- [3] Kumral Z N, Sener G, Ozgur S, et al. Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2016, 67(1): 45
- [4] Pellegrin M, Aubert J F, Bouzourène K, et al. Voluntary exercise stabilizes established angiotensin II-dependent atherosclerosis in mice through systemic anti-inflammatory effects[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143536
- [5] Zhang P, Sun Q, Turner C H, et al. Knee loading accelerates bone healing in mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(12): 1979
- [6] Zhang P, Malacinski G M, Yokota H. Joint loading modality: its application to bone formation and fracture healing[J]. *Br J Sports Med*, 2008, 42(7): 556
- [7] Dobrian A D, Schriver S D, Lynch T, et al. Effect of salt on hypertension and oxidative stress in a rat model of diet-induced obesity[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 285(4): F619
- [8] Zhang P, Yokota H. Knee loading stimulates healing of mouse bone wounds in a femur neck[J]. *Bone*, 2011, 49(4): 867
- [9] Li X, Yang J, Liu D, et al. Knee loading inhibits osteoclast lineage in a mouse model of osteoarthritis[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 24668
- [10] Boffa J J, Lu Y, Placier S, et al. Regression of renal vascular and glomerular fibrosis: role of angiotensin II receptor antagonism and matrix metalloproteinases[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(5): 1132
- [11] 于海利, 刘长江, 王一帆, 等. 决明子蒽醌苷对两肾一夹高血压大鼠降压及肾损伤保护作用研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2014, 13(09): 692
- [12] Kadowaki S, Shishido T, Sasaki T, et al. Deficiency of senescence marker protein 30 exacerbates cardiac injury after ischemia/reperfusion[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(4): 542
- [13] Rabkin S W. Considerations in understanding the coronary blood flow-left ventricular mass relationship in patients with hypertension[J]. *Curr Cardiol Rev*, 2017, 13(1): 75
- [14] Tfd S, Souza A A, Lima F F, et al. Effect of the exercise of walkers performed in public squares with spontaneous or prescribed intensity on post-exercise hypotension[J]. *Rev Saude Publica*, 2017, 51: 71
- [15] Wong A, Alvarez-Alvarado S, Jaime S J, et al. Combined whole-body vibration training and L-citrulline supplementation improves pressure wave reflection in obese postmenopausal women[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2016, 41(3): 292
- [16] Wong A, Alvarez-Alvarado S, Kinsey A W, et al. Whole-body vibration exercise therapy improves cardiac autonomic function and blood pressure in obese pre- and stage 1 hypertensive postmenopausal women[J]. *J Altern Complement Med*, 2016, 22(12): 970
- [17] Zhang P, Turner C H, Yokota H. Joint loading-driven bone formation and signaling pathways predicted from genome-wide expression profiles[J]. *Bone*, 2009, 44(5): 989
- [18] Zhang P, Yokota H. Elbow loading promotes longitudinal bone growth of the ulna and the humerus[J]. *J Bone Miner Metab*, 2012, 30(1): 31
- [19] Liu D, Li X, Li J, et al. Knee loading protects against osteonecrosis of the femoral head by enhancing vessel remodeling and bone healing[J]. *Bone*, 2015, 81: 620
- [20] 巫洪坤, 梁贵友. 间充质干细胞治疗心血管疾病的研究进展[J]. *医学综述*, 2015, 21(14): 2538
- [21] Wang S, Li Y, Zhao J, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate podocyte injury and proteinuria in a type 1 diabetic nephropathy rat model[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013, 19(4): 538

(2017-10-26 收稿)