

高盐饮食对大鼠血浆 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 的表达的影响

黄为民, 刘时彦, 张润慧, 刘丰, 周云
(广州市第一人民医院老年科, 广东 广州 510180)

[摘要] **目的** 探讨高盐饮食对大鼠血压及血浆 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 的表达的影响。**方法** 选取 8 周龄雄性 Wistar 大鼠 80 只, 随机分为对照组 (30 只) 和高盐组 (50 只), 分别给予正常饮水和 2% NaCl 高盐饮水, 喂养 21 d, 每周测量大鼠尾动脉收缩压。实验结束时, 采用酶联免疫吸附实验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测大鼠血浆血管紧张素 II (angiotension II, Ang II)、降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP)、细胞间粘附分子 -1 (intercellular adhesion molecule -1, ICAM-1)、血管间粘附分子 -1 (vascular adhesion molecule-1, VCAM-1)、P 选择素 (P-selectin production, P-S) 的水平。**结果** 与对照组相比, 高盐组大鼠实验 7 d 后血压既有显著升高, 且高血压状态一直持续到实验结束 ($P < 0.05$)。实验 21 d 后, 高盐组大鼠血浆 Ang II、ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 水平显著高于对照组 ($P < 0.05$), 相关性分析显示 Ang II、ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 水平与血压均正相关 ($r = 0.813, P < 0.01$; $r = 0.641, P < 0.05$; $r = 0.693, P < 0.05$; $r = 0.703, P < 0.05$); 高盐组血浆 CGRP 水平低于对照组 ($P < 0.05$), 且血浆 CGRP 水平与血压负相关 ($r = -0.683, P < 0.05$)。**结论** 高盐饮食可影响大鼠血管内皮舒张功能以及引起血管炎症反应。

[关键词] 高血压; 高盐饮食; 大鼠; 血管紧张素 II; 降钙素基因相关肽; 细胞间粘附分子 -1; 血管间粘附分子 -1; P 选择素水平

[中图分类号] R544.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 11-0008-04

Effect of High-salt Diet on the Expression of Ang II, CGRP, ICAM-1, VCAM-1 and P-S in Plasma of Rat

HUANG Wei-min, LIU Shi-yan, ZHANG Run-hui, LIU Feng, ZHOU Yun
(Dept. of Geriatric, No.1 People's Hospital of Guangzhou, Guangzhou Guangdong 510180, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of high-salt diet on blood pressure and expression of Ang II, CGRP, ICAM-1, VCAM-1 and P-S in plasma of rat. **Methods** 80 Wistar rats (8 weeks, male) were randomly divided into control group (fed with tap water, $n = 30$) and high-salt group (fed with high-salt water containing 2% NaCl, $n = 50$). The blood pressure was measured every seven days. After being fed for 21 days, the levels of Ang II, CGRP, VCAM-1, ICAM-1 and P-S in plasma were detected by ELISA. **Results** After 7 days of high-salt dietary, the systolic blood pressure in high-salt group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). The levels of Ang II, ICAM-1, VCAM-1 and P-S in high-salt group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$), and the levels of Ang II, ICAM-1, VCAM-1 and P-S were found to be positively correlated with blood pressure ($r = 0.813, P < 0.01$; $r = 0.641, P < 0.05$; $r = 0.693, P < 0.05$; $r =$

[基金项目] 广东省科技计划基金资助项目 (2012B031800325)

[作者简介] 黄为民 (1967~), 男, 广东新兴县人, 医学硕士, 主任医师, 主要从事老年心血管疾病临床工作。

[通讯作者] 刘时彦. E-mail: liushiyang2015@126.com

0.703, $P < 0.05$); The level of CGRP in high-salt group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$), and was negative correlated with blood pressure ($r = -0.683$; $P < 0.05$). **Conclusions** High salt diet could significantly impair the function of vascular endothelial diastolic and cause vascular inflammation.

[Keywords] Hypertension; High-salt diet; Rat; Ang II; CGRP; ICAM-1; VCAM-1; P-S

高血压是一种以动脉血压持续升高为主要特征, 同时伴有心脏、血管等多脏器结构和功能异常的慢性疾病^[1]. 该病好发于中老年人群, 但由于人们生活方式的改变以及人口老龄化的加重, 高血压的发病年龄趋于年轻化, 并且发生率也逐年上升^[2]. 众多研究发现食物中盐的含量与高血压的发生和发展密切相关, 高盐饮食可导致高血压发生率增加, 盐敏感也是我国高血压患者发病的主要因素之一^[3,4].

近年来, 高血压发生的“血管内皮细胞损伤学说”已成为医学界研究的热点问题^[5]. 正常生理情况下, 血管内皮能够合成多种活性物质, 保持血管的舒张、防止血细胞粘附以及抑制平滑肌增殖等生理功能, 而内皮功能受损会导致活性物质的合成和分泌失调^[6]. 从细胞分子水平对血管内皮细胞所分泌、释放的活性物质进行研究, 有利于对高血压与内皮损伤关系的探索, 为高血压的预防和治疗提供新的思路^[7].

本研究拟通过对盐敏感大鼠给予高盐饮水建立高血压大鼠模型, 并对大鼠血浆中与血管内皮功能相关的 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 等因子的表达水平进行检测, 探讨高盐饮食对大鼠血压及血管内皮功能的影响.

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选择 8 周龄雄性 Wistar 大鼠 80 只 (SHR 级), 购于南方医科大学动物实验中心, 体重 160 ~ 190 g. 适应饲养 1 周后, 将大鼠随机分为对照组和高盐组, 其中对照组大鼠 30 只, 给予自来水和普通饲料喂养; 高盐组大鼠 50 例, 给予质量分数为 2% 的 NaCl 盐水和普通饲料喂养, 实验周期为 21 d. 大鼠模型建立参考文献^[8].

1.2 血压测量

大鼠血压的测量采用尾套加热阻断法, 分别在实验的第 0、7、14、21 d 应用动物无创尾压测

试仪测量大鼠动脉收缩压 (SBP). 将大鼠在 40℃ 环境中预热 10 ~ 15 min, 然后固定于舒适位置休息 2 min, 待大鼠处于安静状态且尾动脉压未定后, 测量其尾动脉压. 每只大鼠连续测量 3 次, 每次间隔 2 min, 取 3 次平均值为该鼠尾动脉压.

1.3 血标本的留取和检测

实验周期结束后, 以 5% 戊巴比妥钠, 按照 45 mg/kg 的剂量标准对大鼠腹腔注射麻醉. 腹主动脉取血 6 mL 注入 EDTA 抗凝管中, 摇匀后 4℃ 离心 (3 000 r/min) 10 min, 分离血浆, -80℃ 保存备用.

1.4 检测方法

采用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 测定大鼠血浆中 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1 及 P 选择素水平, 所有实验操作均严格按照试剂盒使用说明书进行.

1.5 统计学分析

应用 SPSS19.0 软件对数据进行统计学分析, 计量资料采用均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间样本比较采用 t 检验, 相关性采用 Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠血压的变化

对照组大鼠在实验过程中尾动脉收缩压变化不大, 差异不显著 ($P > 0.05$). 高盐组大鼠在实验第 7 天血压已明显升高, 显著高于同阶段对照组大鼠血压, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 且高盐组大鼠高血压状态维持至实验结束, 结果见表 1.

2.2 大鼠血浆 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1、P-S 水平的变化

高盐饮食干预 21 d 后, 高盐组大鼠血浆中 Ang II、ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 水平较对照组显著提高 ($P < 0.01$), 而血浆 CGRP 含量较对照组显著性下降 ($P < 0.01$), 见表 2.

2.3 大鼠血浆 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1、P-S 水平与血压的相关性

大鼠血浆 Ang II、ICAM-1、VCAM-1、P-S 表达水平与大鼠尾动脉收缩压均呈正相关, 相关系数分别为 0.813 ($P = 0.004$)、0.641 ($P = 0.046$)、0.693 ($P = 0.026$)、0.703 ($P = 0.023$); CGRP 表达水平与大鼠尾动脉收缩压呈负相关, 相关系数为 -0.683 ($P = 0.029$), 见表 3。

表 1 不同试验阶段大鼠尾压测量结果 [mmHg, ($\bar{x} \pm s$)]

Tab. 1 The changes in artery systolic pressure of rat-tail at various stage [mmHg, ($\bar{x} \pm s$)]

组别	第 0 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天
对照组	106.36 ± 4.16	109.87 ± 2.60	108.98 ± 2.18	110.32 ± 3.05
高盐组	105.85 ± 3.72	143.65 ± 5.07**	146.11 ± 4.60**	150.54 ± 6.85**

与对照组比较, ** $P < 0.01$.

表 2 2 组大鼠试验后血浆 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1、P-S 水平的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The changes of Ang II, CGRP, ICAM-1, VCAM-1 and P-S in plasma of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	Ang II (ng/L)	CGRP (ng/L)	ICAM-1 (ng/mL)	VCAM-1 (ng/mL)	P-S (ng/mL)
对照组	451.80 ± 52.15	133.21 ± 13.78	2.75 ± 0.43	0.92 ± 0.26	19.41 ± 4.58
高盐组	730.91 ± 76.94**	85.80 ± 11.89**	3.96 ± 0.42**	1.55 ± 0.16**	42.05 ± 7.67**

与对照组比较, ** $P < 0.01$.

表 3 大鼠血浆 Ang II、CGRP、ICAM-1、VCAM-1、P-S 水平与血压的相关性分析

Tab. 3 Correlation between levels of Ang II, CGRP, ICAM-1, VCAM-1, P-S in plasma and artery systolic pressure

组别	Ang II	CGRP	ICAM-1	VCAM-1	P-S
r 值	0.813	-0.683	0.641	0.693	0.703
P 值	0.004	0.029	0.046	0.026	0.023

3 讨论

高血压是一种常见的心血管系统疾病, 其发病原因复杂, 受遗传、环境、精神以及神经机制等多个因素影响。盐作为一个重要的环境因素, 与高血压的关系一直受到人们的关注, 多项研究结果显示高盐饮食是高血压发病的重要原因之一^[9,10]。本研究对 50 只 Wistar 大鼠进行高盐饮食干预, 7 d 后干预组大鼠血压既有明显升高, 且高血压状态持续至实验结束, 而对照组大鼠血压无明显升高, 提示高盐饮食可导致大鼠血压升高。

大量研究资料显示, 高血压患者多存在血管舒张和收缩功能异常的情况, Ang II、CGRP 等血管活性物质对血管舒缩功能的调节起着重要作用。Ang II 是一种重要的血管活性物质, 能够促使动脉平滑肌的收缩, 增加外周阻力, 还可以促进血管内皮细胞和血管平滑肌细胞的增殖, 导致血管壁重塑, 增加血管阻力, 其在高血压的发生和

发展的整个过程中都起着非常重要的作用^[11]。CGRP 是迄今发现的最为强烈的一种舒血管活性多肽, 广泛存在于心血管系统中, 能够抑制血小板的凝集和血管平滑肌的增殖, 从而起到对抗组织损伤和保护血管内皮细胞的作用^[12,13]。机体内 Ang II 和 CGRP 的异常表达, 可直接影响血压的稳定。本研究中观察到高盐饮食可使大鼠血浆中 Ang II 含量明显增加, 而 CGRP 含量显著下降, 两者变化与大鼠血压显著相关, 提示高盐饮食会破坏血管张力控制系统的稳定状态, 引起血管舒缩功能异常, 而导致高血压的形成。

ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 是由血管内皮细胞分泌的炎症相关物质, 正常状态下三者的表达量极低; 当内皮受损时, ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 的表达量明显上调, 能够增强白细胞和血管内皮细胞的黏附作用, ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 的表达水平可作为血管内皮损伤的重要标志^[14]。ICAM-1 和 VCAM-1 同属于细胞黏附因子中免疫球蛋白超家族, 参与了不同细胞间的识别和黏附^[15]。

两者主要通过强化白细胞和内皮细胞的黏附, 促进血管内皮的损伤, 使血管壁发生病变而形成动脉硬化, 最终导致高血压的发生^[16]. P-S 属于细胞黏附因子的选择素家族, 主要有血小板的 A 颗粒和内皮细胞的黏附因子表达, 主要介导白细胞和血小板在血管内皮上的黏附、活化和释放炎性介质, 参与炎症反应. P-S 是血管内皮损伤和血小板活化的特异性标志物, 是急性心血管疾病发生的直接原因^[17,18]. 本研究中高盐饮食干预的大鼠血浆中 ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 的表达量显著高于对照组, 推断高盐饮食可能通过增加黏附因子 ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 的产生, 导致血管内皮损伤而引起高血压.

综上所述, 高盐饮食可导致血浆中血管舒缩因子 Ang II、CGRP 以及内皮炎症因子 ICAM-1、VCAM-1 和 P-S 分泌失调, 且各因子的表达水平与血压密切相关, 推断高盐饮食是通过影响大鼠血管舒缩因子以及内皮炎症因子的表达来引发高血压.

[参考文献]

- [1] 李芝, 王超云, 张树平, 等. 罗布麻叶总黄酮对高脂高盐大鼠高血压的影响及其分子机制[J]. 中草药, 2012, 43(3): 540 - 545.
- [2] 郑莹. 血栓素 B2 和 6-酮-前列环素 F1 α 对中老年高血压及冠心病的诊断价值 [J]. 检验医学与临床, 2014, 11(18): 2 587 - 2 588.
- [3] 牟建军. 盐与高血压研究进展 [J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2011, 3(2): 22 - 25.
- [4] HE J, GU D, CHEN J, et al. Gender difference in blood pressure responses to dietary sodium intervention in the GenSalt study[J]. J Hypertens, 2009, 27(1): 48 - 50.
- [5] 陈园园, 李红梅. VEGF 和 vWF 与妊娠期高血压疾病发病机制的相关性探讨 [J]. 西南国防医药, 2014, 24(8): 917 - 919.
- [6] 陈明, 陈志武, 龙子江, 等. 无患子皂苷对自发性高血压大鼠主动脉血管内皮功能调节作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3 283 - 3 287.
- [7] 李丽娟, 李琼, 魏玲. 亚高原地区高血压与外周动脉硬化相关性探讨 [J]. 西南国防医药, 2011, 21(10): 1 053 - 1 055.
- [8] 王倩, 张翼, 陆敏, 等. 高盐诱导的高血压大鼠模型肾脏组织可溶性表氧化物酶高表达及其作用初步探讨[J]. 北京大学学报(医学版), 2010, 42(2): 126 - 130.
- [9] 黎砚书, 董一飞, 伍锡栋, 等. 高盐高蛋白饮食对 Dah1/SS 大鼠血压、肾脏和消化道病理变化的影响[J]. 实验动物科学, 2014, 31(6): 11 - 16.
- [10] BI Z, LIANG X, XU A, et al. Hypertension prevalence, awareness, treatment, and control and sodium intake in Shandong Province, China: baseline results from Shandong-Ministry of Health Action on Salt Reduction and Shandong-Ministry of Health Action on Salt Reduction and Hypertension (SMASH), 2011 [J]. Prev Chronic Dis, 2014, 11(10): E88.
- [11] 周海哲, 李香, 李军, 等. 脑清通混悬颗粒对高血压模型大鼠 ET、Ang II、CGRP 的影响[J]. 陕西中医, 2015, 36(3): 376 - 379.
- [12] 敬开权, 曾荣, 顾洪丰, 等. 慢性寒冷应激对高血压大鼠血浆及脑组织中 ET-1 和 CGRP 表达的影响 [J]. 中南医学科学杂志 2013, 41(2): 118 - 123.
- [13] 任军生, 姚加平. 原发性高血压患者治疗前后血浆 ET-1 和血清 NO、CGRP 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2013, 26(4): 403 - 404.
- [14] 杨金果, 李运伦, 周洪雷. 钩藤和莱菔子生物碱抗高血压血管内皮细胞损伤效应 [J]. 中成药, 2013, 35(5): 889 - 893.
- [15] 薛一涛, 张颖, 苏文革, 等. 自发性高血压大鼠恐惧情绪与内皮舒张功能障碍的相关性 [J]. 中国心血管杂志, 2012, 17(3): 217 - 221.
- [16] 李牧, 杨佳琳, 杨庭树, 等. 微量元素锶对幼年自发性高血压大鼠血压升高的预防作用及其作用机制探讨 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(12): 2 259 - 2 264.
- [17] 甄玲燕, 蒋蓉芳, 辛峰, 等. 大气细颗粒物对自发性高血压大鼠心血管系统的影响 [J]. 环境与职业医学, 2013, 30(6): 471 - 474.
- [18] 陈华卫, 窦丽, 张钧. 10 周游泳运动对高血压大鼠血浆一氧化氮、血管性血友病因子、P-选择素含量的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2012, 27(10): 928 - 931.

(2015 - 07 - 10 收稿)