

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.05.005

氯沙坦联合螺内酯对预 N- 硝基 -L- 精氨酸甲酯诱导 高血压模型大鼠肾脏纤维化及心室重塑的影响 *

巩 亮¹ 王晓春² 焦 阳³ 姜顺涛¹ 杨光磊¹

(1 贵州省遵义医科大学附属医院心内科 贵州 遵义 563000; 2 贵州省遵义医科大学附属医院综合病房 贵州 遵义 563000;
3 贵州省遵义医科大学第三附属医院心内科 贵州 遵义 563000)

摘要 目的:探讨氯沙坦联合螺内酯对预 N- 硝基 -L- 精氨酸甲酯(N'-nitro-L-arginine-methylesterhydrochloride, L-NAME)诱导高血压模型大鼠肾脏纤维化及心室重塑的影响。**方法:**选择 8 周龄 Wistar 大鼠为研究对象,通过给予 0.1 % 的 L-NAME 饮用水诱导高血压模型。将大鼠根据随机数字表法分为三组:对照组,诱导组和联合治疗组。通过超声心动图比较室间隔厚度和左心室后壁厚度。CODA™8 无创血压系统监测大鼠心脏功能。通过蛋白印迹分析大鼠肾切片中 I 型胶原、III 型胶原和 CTGF 的蛋白表达。Masson 的三色染色评估肾脏组织胶原含量沉积。通过 RT-PCR 分析大鼠心脏肥大标志物和转录因子心房利钠肽 (Atrial natriuretic peptide, ANP)和脑利钠肽 (Brain natriuretic peptide, BNP)的表达。通过免疫组化和免疫比浊法分析大鼠肾小球硬化指数和白蛋白尿。**结果:**模型组较对照组大鼠室间隔厚度和左心室后壁厚度、MAP 和心脏 / 体重比、I 型胶原、III 型胶原和 CTGF 的蛋白表达、ANP 和 BNP 的 mRNA 表达、肾小球硬化指数和白蛋白尿以及 SMA 和 TGF-β1 的蛋白表达均显著增加,FS 显著降低($P<0.05$)。联合治疗组较模型组室间隔厚度和左心室后壁厚度、MAP 和心脏 / 体重比、I 型胶原、III 型胶原和 CTGF 的蛋白表达、ANP 和 BNP 的 mRNA 表达、肾小球硬化指数和白蛋白尿以及 SMA 和 TGF-β1 的蛋白表达均显著降低,FS 显著增加($P<0.05$)。**结论:**氯沙坦联合螺内酯可减轻 L-NAME 诱导的高血压大鼠模型中心脏重塑和肾脏纤维化的发生。

关键词:氯沙坦;螺内酯;L-NAME;高血压;心脏重塑;肾脏纤维化

中图分类号:R-33;R544.1;R542.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)05-822-05

Effects of Losartan Combined with Spironolactone on Renal Fibrosis and Ventricular Remodeling in Hypertensive Rats Induced by N-nitro-L-arginine Methyl Ester*

KONG Liang¹, WANG Xiao-chun², JIAO Yang³, JIANG Shui-tao¹, YANG Guang-lei¹

(1 Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Guizhou Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou, 563000, China;

2 General ward of the Affiliated Hospital of Guizhou Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou, 563000, China;

3 Department of Cardiology, the Third Affiliated Hospital of Guizhou Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou, 563000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of losartan combined with spironolactone on N'-nitro-L-arginine-methylesterhydrochloride (L-NAME) induced renal fibrosis and ventricular remodeling in hypertensive rats influences. **Methods:** Eight-week-old Wistar rats were selected as the research object, and the hypertension model was induced by giving 0.1% L-NAME drinking water. The rats were divided into three groups according to the random number table: the control group, the induction group and the combined treatment group. The thickness of the interventricular septum and the thickness of the posterior wall of the left ventricle were compared by echocardiography. CODA™8 non-invasive blood pressure system monitors rat heart function. The protein expression of type I collagen, type III collagen and CTGF in rat kidney sections was analyzed by Western blot. Masson's trichromatic staining assesses the deposition of collagen content in kidney tissue. The expressions of rat cardiac hypertrophy markers and transcription factors Atrial natriuretic peptide (ANP) and Brain natriuretic peptide (BNP) were analyzed by RT-PCR. Analyze rat glomerulosclerosis index and albuminuria by immunohistochemistry and immunoturbidimetry. **Results:** Compared with the control group, the thickness of the ventricular septum and the thickness of the posterior wall of the left ventricle, the MAP and heart/weight ratio, the protein expression of type I collagen, type III collagen and CTGF, the mRNA expression of ANP and BNP, the glomerulosclerosis index and the expression of the model group were compared with those of the control group. Albuminuria and the protein expression of SMA and TGF-β1 all increased significantly, while FS was significantly reduced ($P<0.05$); The combined treatment group compared the thickness of the ventricular septum and the thickness of the left ventricular posterior wall, the MAP and heart/weight ratio, the protein expression of type I collagen, type III collagen and CTGF, the mRNA expression of ANP and BNP, the glomerular sclerosis index and the whiteness of the model group. Proteinuria and the protein ex-

* 基金项目:贵州省科技厅基金项目(黔科合基础[2016]1173)

作者简介:巩亮(1974-),男,硕士,主任医师,研究方向:心内科,E-mail:gl417185871@163.com

(收稿日期:2021-05-07 接受日期:2021-05-31)

pression of SMA and TGF- β 1 were significantly reduced, while FS increased significantly ($P<0.05$). **Conclusion:** Losartan combined with spironolactone can reduce the occurrence of cardiac remodeling and renal fibrosis in the L-NAME-induced hypertensive rat model.

Key words: Losartan; Spironolactone; L-NAME; Hypertension; Heart remodeling; Renal fibrosis

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R544.1; R542.23 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)05-822-05

前言

高血压是国家对公共健康日益关注的问题,其特征是起病快和早期即可造成靶器官损伤^[1,2]。相关研究显示:对高血压的不良控制极大地增加了心血管疾病的负担以及相关的发病率和死亡率^[3]。研究表明,收缩压每降低 10 mmHg,就会有助于使心脑血管风险降低^[4]。高血压是世界范围内的常见疾病,也是病理性心血管疾病的重要危险因素^[5,6]。慢性高血压可导致左心室肥大,纤维化,甚至可能损害目标器官,例如心脏、血管和肾脏^[7,8]。L-NAME 是一氧化氮合酶活性的抑制剂,长期服用 L-NAME 会导致 NO 普遍减少,从而导致内皮功能障碍,这在高血压的早期阶段就可以观察到^[9-11]。L-NAME 诱发的高血压与激活的交感神经和广泛的血管收缩有关,其 ANP 和 BNP 的表达增加^[12,13]。此外,高血压会导致心肌与肾脏纤维化,这是其肥大的特征,纤维化被认为是驻留纤维细胞分泌的胶原蛋白过多积聚所致^[14,15]。在临床上,目前尚无有效的方法来治疗心脏纤维化。因此,需要寻找针对高血压,心脏肥大和纤维化并发症的治疗方法。研究表明,由动脉高压引起的心肌纤维化会改变心肌的结构和功能。其心肌纤维化的特征是 I 型和 III 型胶原的病理性堆积^[16]。此次研究,我们使用了醛固酮拮抗剂(螺内酯)和血管紧张素 II 拮抗剂(氯沙坦)以观察并阐明在 L-NAME 大鼠发生的心肌重塑和肾脏纤维化中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验大鼠 8 周龄左右 Wistar 大鼠,200 $\pm$ 20 g,室温 24 $^{\circ}$ C,自然光照明。动物可自由使用大鼠食物和自来水。高血压大鼠模型给予 0.1% 的 L-NAME 饮用水,诱导期为 8 周。

1.1.2 实验分组 将所有实验大鼠分为三组:对照组(给予 0.9% NaCl 的生理盐水作为对照实验, $n=8$),诱导组(饮用水中添加 0.1% 的 L-NAME 诱导大鼠诱发高血压, $n=8$),联合治疗组(在诱导组大鼠的基础上,通过日常管饲法给大鼠螺内酯 1 mg/kg 和氯沙坦 20 mg/kg 的药物处理, $n=8$)。

1.2 实验方法

1.2.1 超声心动图检查 在轻度异戊烷麻醉下对大鼠进行经胸超声心动图检查。从短轴 B 型超声心动图,我们确定了左心室壁厚度。除壁厚外,还以舒张期(LVIDd)和收缩期(LVIDs)确定左心室内腔直径。所有结果均为三个测量值的中位数,并计算出左心室缩短分数(FS)。

1.2.2 血压测量 使用无创尾巴容积描记法对大鼠的血压进行测量。上午 8 点测量收缩压(SBP),舒张压(DBP)和心率(HR)。SBP $\geq$ 200 mmHg 和 DBP $\geq$ 160 mmHg 的大鼠被认为是高血压。平均动脉压(MAP)=舒张压(DBP)+1/3 脉压差(SBP-DBP),在此期间结束时,检测并定量测定的心脏重量/

体重比(HW/BW)。

1.2.3 蛋白印迹分析 用 4-12%SDS-PAGE 凝胶在 4 $^{\circ}$ C、200 V、35 min 条件下分离总外体蛋白。在 4 $^{\circ}$ C、200 mA 条件下将蛋白质转移到 PVDF 膜上 2 h,在 TBST 缓冲液中用 5%脱脂牛奶封闭 1 h。将 I 型胶原、III 型胶原和 CTGF 的稀释一级抗体在 4 $^{\circ}$ C 下过夜,与二级抗体孵育。用 ECL 化学发光底物检测抗体结合,并在 ImageQuant LAS 500 上成像。

1.2.4 肾小球功能检测 将大鼠置于代谢笼中,并在基线时收集 24 小时尿液样本。收集后,在进行醛固酮的放射免疫测定之前,将尿液储存在 208 $^{\circ}$ C。尿白蛋白通过免疫比浊法(BN-2 分析仪)测量。两个肾脏都固定在 4%福尔马林中,并包埋在石蜡中。准备检查整个肾脏的中央横截面,包括皮质和髓质。在 4 毫米厚的切片中测量肾小球硬化指数(GSI)和肾小管萎缩,并用高碘酸-希夫(Schiff)法染色。肾病理学家以盲法使用累积的半结肠镜检查法计算了浅表和近肾小球肾小球和肾小管萎缩整个间质区域的 GSI。

1.2.5 聚合酶链反应 用酸性硫氰酸胍/苯酚/氯仿提取方法从每个左心室的 100 mg 冷冻组织中分离总 RNA。23 个 mRNA(1 μ g)用 oligo(dT)和 MMLV 逆转录酶(BRL)反转录为 cDNA。最终体积为 20 μ L。用大鼠 ANP、BNP、SMA 和 TGF- β 1 以及 GAPDH 扩增 2 μ L 逆转录产物。所有 PCR 均以 25 μ L 的体积进行。混合物包含 10 mmol/L dNTP,1 $\times$ PCR 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.3, 50 mmol/L KCl, 40%二甲基亚砜, 0.001%明胶, 0.75 mmol/L MgCl₂),将每个样品在 DNA 热循环仪(Perkin-Elmer Cetus)中孵育 25 个循环,每个循环在 94 $^{\circ}$ C 下进行 2 分钟;通过 3%琼脂糖凝胶电泳分析 PCR 片段,并通过溴化乙锭染色可视化。

1.3 统计分析

结果表示为平均值 $\pm$ SEM。用一因素和两因素方差分析进行统计分析,Bonferroni/Dunn 检验以比较多个组。通过最小二乘法获得相关系数。使用 statview 4.0 软件分析数据。当 $P<0.05$ 时,建立了统计学显著性。

2 结果

2.1 超声心动图分析

模型组较对照组大鼠室间隔厚度和左心室后壁厚度增加($P<0.05$),联合治疗组较模型组厚度降低($P<0.05$)。(表 1)。

2.2 心脏功能检测

模型组较对照组大鼠 MAP 和心脏/体重比升高,FS 降低($P<0.05$),联合治疗组较模型组 MAP 和心脏/体重比降低($P<0.05$),FS 升高($P<0.05$)。(表 2)。

2.3 蛋白印迹分析纤维化因子

模型组较对照组大鼠 I 型胶原、III 型胶原和 CTGF 的蛋白表达升高($P<0.05$),联合治疗组较模型组降低($P<0.05$)。(表 3)。

表 1 大鼠心室重塑分析($\bar{x} \pm s$)Table 1 Analysis of ventricular remodeling in rats($\bar{x} \pm s$)

Groups	Interventricular septal thickness(mm)	Left ventricular posterior wall thickness(mm)
Control group	0.68± 0.14	0.59± 0.12
Model group	0.95± 0.18*	0.93± 0.17*
Combined treatment group	0.73± 0.15 [#]	0.66± 0.14 [#]
F	9.382	11.625
P	0.016	0.035

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, [#] $P < 0.05$.

表 2 大鼠心脏功能分析($\bar{x} \pm s$)Table 2 Cardiac Function Analysis of Rats($\bar{x} \pm s$)

Groups	MAP(mmHg)	FS(%)	Heart/weight ratio(g/Kg)
Control group	129.46± 5.26	32.16± 4.79	3.63± 0.46
Model group	145.73± 6.44*	26.53± 2.84*	4.29± 0.68*
Combined treatment group	133.28± 4.18 [#]	33.29± 5.01 [#]	4.05± 0.33 [#]
F	13.825	11.074	9.638
P	0.003	0.026	0.034

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, [#] $P < 0.05$.

表 3 蛋白印迹分析纤维化因子($\bar{x} \pm s$)Table 3 Fibrosis Factor Analysis by Western blotting($\bar{x} \pm s$)

Groups	Collagen I	Collagen III	CTGF
Control group	1.16± 0.08	1.09± 0.07	1.15± 0.08
Model group	2.24± 0.35*	2.15± 0.24*	1.95± 0.21*
Combined treatment group	1.37± 0.14 [#]	1.18± 0.12 [#]	1.21± 0.10 [#]
F	11.473	9.026	13.644
P	0.013	0.025	0.006

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, [#] $P < 0.05$.

2.4 RT-PCR 分析大鼠心脏肥大标志物和转录因子 ANP、BNP ($P < 0.05$), 联合治疗组较模型组 ANP 和 BNP 的 mRNA 降低的表达 ($P < 0.05$)。(表 4)。

模型组较对照组大鼠 ANP 和 BNP 的 mRNA 表达升高

表 4 RT-PCR 分析大鼠心脏肥大标志物和转录因子 ANP、BNP 的表达($\bar{x} \pm s$)Table 4 RT-PCR Analysis of ANP, BNP expression of cardiac hypertrophy markers and transcription factors in rats($\bar{x} \pm s$)

Groups	ANP	BNP
Control group	1.18± 0.13	1.07± 0.15
Model group	2.36± 0.26*	1.98± 0.24*
Combined treatment group	1.26± 0.15 [#]	1.18± 0.12 [#]
F	13.528	11.043
P	0.014	0.022

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, [#] $P < 0.05$.

2.5 大鼠肾小球结构功能检测

模型组较对照组大鼠肾小球硬化指数和白蛋白尿升高 ($P < 0.05$), 联合治疗组较模型组降低 ($P < 0.05$)。(表 5)。

2.6 蛋白印迹分析促纤维化因子的蛋白表达

模型组较对照组大鼠 SMA 和 TGF- β 1 的蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 联合治疗组较模型组降低 ($P < 0.05$)。(表 6)。

表 5 大鼠肾小球结构功能检测($\bar{x} \pm s$)
Table 5 Study of glomerular structure function in rats($\bar{x} \pm s$)

Groups	Glomerular sclerosis index	Albuminuria(mg/24 h)
Control group	0.63± 0.11	18.25± 3.46
Model group	1.65± 0.24*	48.53± 6.24*
Combined treatment group	0.85± 0.14 [#]	34.06± 4.25 [#]
F	12.638	10.224
P	0.014	0.037

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, [#] $P < 0.05$.

表 6 蛋白印迹分析促纤维化因子的蛋白表达($\bar{x} \pm s$)
Table 6 Expression of Fibrogenic Factors by Western Biotting($\bar{x} \pm s$)

Groups	SMA	TGF- β 1
Control group	1.14± 0.11	1.15± 0.13
Model group	1.95± 0.24*	2.13± 0.25*
Combined treatment group	1.22± 0.13 [#]	1.18± 0.14 [#]
F	11.625	13.856
P	0.014	0.033

Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; Compared with the model group, [#] $P < 0.05$.

3 讨论

高血压引起的实验性左心室超负荷与心肌细胞表型的定量和定性变化有关,在高血压中,左心室肥大也与间质空间和冠状动脉周围的纤维化变化有关^[17,18]。这种间质激活的主要结果是纤维化,而间质纤维化是导致心脏病和肾病的主要原因之一^[19]。纤维化是由细胞外基质(主要由 I 型和 III 型胶原蛋白组成)的合成和降解之间的失衡导致的,合成这些胶原的细胞是间质和冠状周成纤维细胞^[20,21]。导致成纤维细胞合成和积累胶原的病理生理状况可以与激活心肌细胞肥大的病理生理状况分离^[22]。纤维化可以在肥大的左心室和发生病变的肾脏中发现。已经证明,使用一种特定的醛固酮受体拮抗剂治疗可阻止大鼠中胶原蛋白密度的增加^[23]。心脏成纤维细胞被认为是负责在心脏细胞外基质内产生和沉积纤维状胶原蛋白的主要成分,主要是 I 型和 III 型胶原蛋白^[24]。调节成纤维细胞胶原蛋白合成的因素仍存在争议。据推测,激素(醛固酮,Ang II)和/或血液动力学(心室超负荷,冠状动脉灌注压高)因素可直接或间接介导成纤维细胞"激活"^[25,26]。基质的积累似乎始于冠状动脉的外膜(冠状动脉纤维化),并延伸至相邻的肌间质网络(间质纤维化)。冠状动脉和间质纤维化与心肌僵硬异常有关,与间质和冠状动脉纤维化同时,替代性纤维化在心肌细胞坏死后开始,诱发慢性高血压的舒张和收缩功能障碍^[27,28]。

本研究观察到诱导组大鼠的肾小球功能和心脏功能恶化,而联合治疗后的高血压大鼠相关功能达到对照组大鼠水平,表明:氯沙坦联合螺内酯可改善 L-NAME 诱导的高血压大鼠舒张末期容积,左心室重量和左心室收缩力。在一些高血压动物模型中,已证明肾小球通透性依赖于血管紧张素 II^[29,30],结合本研究结果可知:L-NAME 给药可升高血压,诱导心脏重塑,室壁增厚,肾脏纤维化,氯沙坦联合螺内酯可有效降低血压升高并

抑制心脏重塑和纤维化,药物的有益作用可解释是有助于血管紧张素 II 受体或血管紧张素 II 转换酶的下调,它们是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的组成部分。

另外,本研究证明了模型组较对照组大鼠 I 型胶原、III 型胶原和 CTGF 的蛋白表达升高,而联合治疗组较模型组降低,因此可有效减轻预先建立的高血压大鼠的心肌和肾脏的纤维化,其抗纤维化作用是由于 ECM 蛋白(例如 I 型胶原,III 型胶原和 CTGF)的下调。Masson 的三色染色表明,L-NAME 的使用可持续诱导胶原蛋白的积累,与对照组比较,心脏的纤维化在诱导组的血管周围区域和间质心肌中特别明显,联合治疗可抑制胶原蛋白沉积的增加。此外,氯沙坦联合螺内酯还降低了 L-NAME 诱导的 TGF- β 1 和 SMA,它是成纤维细胞增殖和 ECM 积累的细胞因子和介质。本次实验证明了氯沙坦联合螺内酯治疗减弱了由超声心动图确定的左室重塑,并可缓解左室间隔和后壁增厚。

综上所述,我们的研究结果表明,氯沙坦联合螺内酯可减轻 L-NAME 诱导的高血压大鼠模型中心脏重塑和肾脏纤维化的发生,因此,氯沙坦和螺内酯可以为治疗纤维化或高血压的心血管疾病提供一种新颖的具确切疗效的治疗方法。

参考文献(References)

- [1] Savitha MN, Siddesha JM, Suvilesh KN, et al. Active-site directed peptide l-Phe-d-His-l-Leu inhibits angiotensin converting enzyme activity and dexamethasone-induced hypertension in rats [J]. Peptides, 2019, 112: 34-42
- [2] Lindoso RS, Lopes JA, Binato R, et al. Adipose Mesenchymal Cells-Derived EVs Alleviate DOCA-Salt-Induced Hypertension by Promoting Cardio-Renal Protection [J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2020, 16: 63-77
- [3] Cortinovis M, Aiello S, Mister M, et al. Autotaxin Inhibitor Protects

- from Chronic Allograft Injury in Rat Kidney Allotransplantation[J]. *Nephron*, 2020, 144: 38-48
- [4] Oliveira M, Lira R, Freire T, et al. Bone marrow mononuclear cell transplantation rescues the glomerular filtration barrier and epithelial cellular junctions in a renovascular hypertension model [J]. *Exp Physiol*, 2019, 104: 740-754
- [5] Fagard R H, Thijs L, Staessen J A. Assessing hypertension therapies: randomization or confounding by indication? [J]. *Blood Pressure*, 2019, 40(4-suppl-S1): 1485-1487
- [6] Altara R, da Silva GJJ, Frisk M, et al. Cardioprotective Effects of the Novel Compound Vastiras in a Preclinical Model of End-Organ Damage[J]. *Hypertension*, 2020, 75: 1195-1204
- [7] Andrade N, Andrade S, Silva C, et al. Chronic consumption of the dietary polyphenol chrysin attenuates metabolic disease in fructose-fed rats[J]. *Eur J Nutr*, 2020, 59: 151-165
- [8] E Alegría-Herrera, Herrera-Ruiz M, R Román-Ramos, et al. Effect of Ocimum basilicum, Ocimum selloi, and Rosmarinic Acid on Cerebral Vascular Damage in a Chronic Hypertension Model [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2019, 42(2): 201-211
- [9] Caniffi C, Cerniello FM, Bouchet G, et al. Chronic treatment with C-type natriuretic peptide impacts differently in the aorta of normotensive and hypertensive rats [J]. *Pflugers Arch*, 2019, 471: 1103-1115
- [10] 谢琳, 张辉, 丁宁, 等. ASPP2 调控 GRP78 在 L-NAME 诱导胎盘滋养细胞凋亡中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2019, 35(06): 30-35
- [11] 叶泉英, 陈启生, 李艳文, 等. 决明子水提物干预 N-硝基-L-精氨酸甲酯诱导高血压模型大鼠血压的变化 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(11): 1705-1711
- [12] Li L, Wang C, Gu Y. Collagen IV, a promising serum biomarker for evaluating the prognosis of revascularization in a 2-kidney, 1-clip hypertensive rat model [J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2020, 30: 483-490
- [13] Hamounpeima I, Hosseini M, Mohe Bb Ati R, et al. Effect of Hydroalcoholic Extract of Ribes khorasanicum on Acute Hypertension Induced by L-NAME in Rat [J]. *J Pharmacopuncture*, 2019, 22(3): 160-165
- [14] Menendez-Castro C, Cordasic N, Dambietz T, et al. Correlations Between Interleukin-11 Expression and Hypertensive Kidney Injury in a Rat Model of Renovascular Hypertension [J]. *Am J Hypertens*, 2020, 33: 331-340
- [15] Ou JY, Yu GM, Tan XJ, et al. MiR-29 alleviates renal fibrosis in hypertension rats through inhibiting AKT signaling pathway[J]. *Minerva Endocrinol*, 2019, 44(4): 417-419
- [16] Torres JA, Rezaei M, Broderick C, et al. Crystal deposition triggers tubule dilation that accelerates cystogenesis in polycystic kidney disease[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129: 4506-4522
- [17] Nakajima Y, Ito S, Asakura M, et al. A dipeptidyl peptidase-IV inhibitor improves diastolic dysfunction in Dahl salt-sensitive rats [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 129: 257-265
- [18] Sun HJ. Current Opinion for Hypertension in Renal Fibrosis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1165: 37-47
- [19] Krebber MM, Papazova DA, Oosterhuis NR, et al. Dissociation between hypertrophy and fibrosis in the left ventricle early after experimental kidney transplantation[J]. *J Hypertens*, 2020, 38: 489-503
- [20] Kato S, Takahashi T, Miyata N, et al. DMOG, a Prolyl Hydroxylase Inhibitor, Increases Hemoglobin Levels without Exacerbating Hypertension and Renal Injury in Salt-Sensitive Hypertensive Rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2020, 372: 166-174
- [21] Pei, Lixin, Shu, et al. Effect of chrysanthemum extract on myocardial fibrosis in rats with renovascular hypertension [J]. *J Tradit Chin Med*, 2019, v.39(04): 96-103
- [22] Pei L, Shu S, Wang X, et al. Effect of chrysanthemum extract on myocardial fibrosis in rats with renovascular hypertension [J]. *J Tradit Chin Med*, 2019, 39: 542-549
- [23] Hekmat AS, Zare N, Moravej A, et al. Effect of Prolonged Infusion of Alamandine on Cardiovascular Parameters and Cardiac ACE2 Expression in a Rat Model of Renovascular Hypertension[J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42: 960-967
- [24] Cheng Y, Wang D, Wang F, et al. Endogenous miR-204 Protects the Kidney against Chronic Injury in Hypertension and Diabetes[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2020, 31: 1539-1554
- [25] Ogawa Y, Takahashi J, Sakuyama A, et al. Exercise training delays renal disorders with decreasing oxidative stress and increasing production of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid in Dahl salt-sensitive rats [J]. *J Hypertens*, 2020, 38: 1336-1346
- [26] 段力, 尧逢友. 温阳化饮益气活血法对急性心肌梗死后早期左室重构大鼠心肌纤维化及肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活影响 [J]. *四川中医*, 2019, 37(8): 33-36
- [27] Goto M, Suematsu Y, Nunes ACF, et al. Ferric Citrate Attenuates Cardiac Hypertrophy and Fibrosis in a Rat Model of Chronic Kidney Disease[J]. *Iran J Kidney Dis*, 2019, 13: 98-104
- [28] Kazutaka, Horiuchi, Syunsuke, et al. Coronary Artery Bypass Grafting complicated with sternocostoclavicular hyperostosis; Report of a Case[J]. *Kyobu geka*, 2019, 72(9): 698-701
- [29] Xue H, Geurts AM, Usa K, et al. Fumarase Overexpression Abolishes Hypertension Attributable to endothelial NO synthase Haploinsufficiency in Dahl Salt-Sensitive Rats [J]. *Hypertension*, 2019, 74: 313-322
- [30] Hirata T, Smith SV, Takahashi T, et al. Increased Levels of Renal Lysophosphatidic Acid in Rodent Models with Renal Disease [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2021, 376: 240-249