

自发性高血压大鼠外周血单核细胞亚群 与左室重塑的相关性研究*

杨国红¹ 周欣¹ 刘军翔¹ 孙婧¹ 孙海英¹ 赵季红¹ 姜铁民¹ 李玉明¹

【摘要】目的:探讨自发性高血压大鼠(SHR)外周血单核细胞亚群与高盐加速诱导的高血压性左室重塑的相关性。**方法:**7周龄雄性SHR按饮食中的NaCl浓度随机分为低盐(LS)组(0.5% NaCl)和高盐(HS)组(8% NaCl),干预12周。所有大鼠以标准的尾压法测定无创尾压,并于处死前进行心脏超声测定;分别在饮食干预前及处死前采取外周血,利用流式细胞术分析单核细胞亚群的变化;以苦味酸-天狼星红(PSR)染色观察心肌组织纤维化程度;以麦芽胚凝集素(WGA)荧光染色计算心肌细胞横截面积(CSA);采用CD68免疫组织化学染色观察心肌间质巨噬细胞的浸润程度;并对所测指标与单核细胞亚群比例进行相关性分析。**结果:**饮食干预结束时,HS组收缩压、心率、左室质量(LVM)及左室质量指数(LVMI)均显著高于LS组,体质量明显减轻,差异有统计学意义($P<0.05$);与LS组比较,HS组在高盐干预12周时CD43⁺⁺单核细胞比例明显增加,CD43⁺单核细胞比例明显减低($P<0.05$),HS组组内比较也得出同样结果;心脏超声结果显示,HS组左室舒张末期径(LVEDD)及左室舒张末期容积(LVEDV)显著高于LS组($P<0.05$),而反映心脏功能的指标无明显差异;同时,HS组心肌间质及血管周纤维化程度明显增加,CSA显著高于LS组,巨噬细胞浸润程度也明显加重;相关性分析结果显示,高盐干预12周时CD43⁺⁺单核细胞比例与收缩压、LVM、LVMI、LVEDD、LVEDV、心肌纤维化程度、CSA及巨噬细胞浸润程度均呈正相关关系。**结论:**高盐干预12周时CD43⁺⁺单核细胞比例明显增加,其与SHR的左室重塑相关,说明CD43⁺⁺单核细胞亚群在此病理过程中扮演着重要角色,这一发现为将来以单核细胞为靶点的干预研究指明了方向。

【关键词】 高盐;高血压;左室重塑;单核细胞亚群;流式细胞术

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.05.020

【中图分类号】 R544.1 **【文献标志码】** A

Correlation analysis between peripheral blood monocyte subsets and left ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats

YANG Guohong ZHOU Xin LIU Junxiang SUN Jing
SUN Haiying ZHAO Jihong JIANG Tiemin LI Yuming

(Institute of Cardiovascular Disease and Heart Center, Pingjin Hospital, Logistics University of the Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin Key Laboratory of Cardiovascular Remodeling and Target Organ Injury, Tianjin 300162, China)

Corresponding author: LI Yuming E-mail: cardiolab@live.com

Abstract Objective: To explore the relationship between peripheral blood monocyte (PBM) subsets and left ventricular remodeling in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Method:** Seven-week-old male SHR were randomized to receive 0.5% NaCl (low salt, LS) and 8% NaCl (high salt, HS) for 12 weeks. Blood pressure was measured by tail cuff method. Peripheral blood were collected for flow cytometry analysis at baseline and after 12-week salt intervention. At the end of intervention, all rats were anesthetized for echocardiography measurements and then sacrificed. Morphologic staining (collagen deposition, cardiomyocyte hypertrophy and macrophage infiltration) were performed at time of sacrifice. And the relationship between PBM subsets and (LV) remodeling were analyzed at last. **Result:** Compared with LS group, the systolic blood pressure (SBP), heart rates (HR), left ventricular mass (LVM) and LVM index (LVMI) of HS group were significantly increased while body mass (BM) was markedly decreased at the end of 12-week intervention ($P<0.05$). Flow cytometry analysis showed that the percentage of CD43⁺⁺ monocyte in HS group were apparently increased while a reduction of CD43⁺ monocytes were observed compared with LS group ($P<0.05$). Echocardiography measurements demonstrated that the LV

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81600328);天津市自然科学基金(No:16JJCQNJC11800);武警后勤学院中心实验室开放基金(No:2015ZXKF11);武警后勤学院附属医院种子基金(No:FYM201533)

¹ 中国人民武装警察部队后勤学院附属医院心脏中心 心血管病研究所 天津市心血管重塑与靶器官损伤重点实验室(天津, 300162)

通信作者:李玉明, E-mail: cardiolab@live.com

end-diastolic dimension (LVEDD) and LV end-diastolic volume (LVEDV) were significantly increased ($P < 0.05$) though no markedly differences of left ventricular function indexes were found. Moreover, morphologic staining found that a severe myocardial fibrosis, cardiomyocyte hypertrophy and macrophage infiltration were observed in the HS group. And a positive correlation between the percentage of CD43⁺⁺ monocyte and SBP, LVM, LVMI, LVEDD, LVEDV, myocardial fibrosis, cardiomyocyte hypertrophy and macrophage infiltration were also observed.

Conclusion: The present study demonstrates a positive correlation between the CD43⁺⁺ monocytes and left ventricular remodeling which indicates a important role of CD43⁺⁺ monocyte in this process and prompts a valuable therapy target for further study.

Key words high salt; hypertension; left ventricular remodeling; monocyte subset; flow cytometry

高血压是心血管疾病最重要的危险因素之一^[1]。随着血压水平的逐渐升高,心血管疾病发生的危险亦相应增加^[2]。大量证据表明,慢性高盐摄入是导致高血压及相关靶器官损害的重要危险因素^[3-5]。已有文献报道单核细胞不同亚群比例和功能失调是众多心血管疾病发生发展的重要病理生理学基础之一^[6-8]。笔者前期研究也发现,自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)经8%的高盐饮食干预12周后,血压水平增高和左室重塑显著的同时,心肌间质巨噬细胞浸润程度明显增加,该现象提示单核吞噬细胞(mononuclear phagocytes, MP)可能在高盐诱导的高血压性左室重塑过程中发挥着重要作用^[9]。为进一步证实此观点,笔者利用流式细胞术分析了不同时间点SHR外周血单核细胞亚群的变化,来观察单核细胞亚群与高血压性左室重塑的相关性,以期将来以单核细胞为靶点的干预策略研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物由军事医学科学院卫生环境医学研究所提供,许可证号:SCXK-(军)2007-004。不同含量盐饲料由天津利居生物用品供应中心制备;小鼠抗大鼠单核细胞表面标志物CD172a抗体、PerCP-Cy5.5荧光标记的山羊抗小鼠IG(IG-PerCP-Cy5.5)抗体、PE-Cy5荧光标记的小鼠抗大鼠单核细胞亚群表面标志物CD43(CD43-PE-Cy5)抗体均购自Biolegend公司;天狼猩红(picro-sirius red, PSR)染液和麦胚凝集素(wheat germ agglutinin, WGA)均购自Sigma公司;4',6-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride(DAPI)购自Roche公司;小鼠抗大鼠巨噬细胞表面标志物CD68单克隆抗体购自美国AbD公司,超敏小鼠二步法免疫组织化学检测系统购自北京中杉金桥生物技术有限公司;LE 5001大鼠血压测量仪购自西班牙Panlab公司;Cytomics FC 500流式细胞仪购自Beckman Coulter公司;Vivid 7超声系统购自美国GE公司;MP15016导生理记录仪购自美国Biopac公司;Mikro-Tip Conductance Catheter SPR-838压力容积导管购自美国Millar公司;E600POL偏振光显微镜和ECLIPSE 80i荧光显微镜购自日本Nikon

公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物与分组 7周龄雄性SHR 30只,体质量(body mass, BM)150~200 g,经普通饲料适应性喂养1周后,随机分为低盐(low salt, LS)组和高盐(high salt, HS)组,每组15只,分别给予NaCl含量为0.5%和8%的饮食干预,干预时间12周。利用大鼠血压测量仪动态测量收缩压(systolic blood pressure, SBP)和心率(heart rates, HR),所有大鼠处死前记录BM,处死后记录左室质量(left ventricular mass, LVM),并计算LVM指数(left ventricular mass index, LVMI),计算公式LVMI=LVM/胫骨长。

1.2.2 SHR外周血单核细胞亚群比例的测定 分别于饮食干预前基线(baseline, BS)及干预12周末时采血测定大鼠单核细胞亚群^[10]。用1 ml注射器取大鼠尾静脉血100 μ l,加入EDTA抗凝的采血管中混匀。取0.15 μ l的CD172a抗体及0.25 μ l的CD43-PE-Cy5抗体与50 μ l的抗凝血混匀并避光孵育15 min,之后加入1 ml红细胞裂解液避光孵育10 min,350 \times g离心5 min弃上清后加入1 ml细胞染色缓冲液重悬细胞,再次以350 \times g离心5 min,弃上清加入山羊抗小鼠IG-PerCP-Cy5.5抗体避光孵育15 min,随后以500 μ l细胞染色缓冲液重悬细胞,上机检测。根据表达的CD43的荧光强度的不同可以将单核细胞分为CD172a阳性CD43阳性(CD172a⁺CD43⁺,即CD43⁺)的单核细胞和CD172a阳性CD43强阳性(CD172a⁺CD43⁺⁺,即CD43⁺⁺)的单核细胞,应用Flow Jo 7.6.1软件对流式数据进行分析(图1)。

1.2.3 SHR心脏超声指标的测定 在饮食干预12周末时进行大鼠超声测定。所有大鼠均在麻醉(苯巴比妥,40 mg/kg,皮下注射)下进行超声数据的采集。在二维M型模式下测定左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD),左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD),左室舒张末期容积(left ventricular end-diastolic volume, LVEDV)和左室收缩末期容积(left ventricular end-systolic volume, LVESV),左室缩短分数(left ventricular

fractional shortening, LVFS)和左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)计算公式:
 $LVFS(\%) = [(LVEDD - LVESD)/LVEDD] \times$

100% , $LVEF(\%) = [(LVEDV - LVESV)/LV-EDV] \times 100\%$ ^[9]。

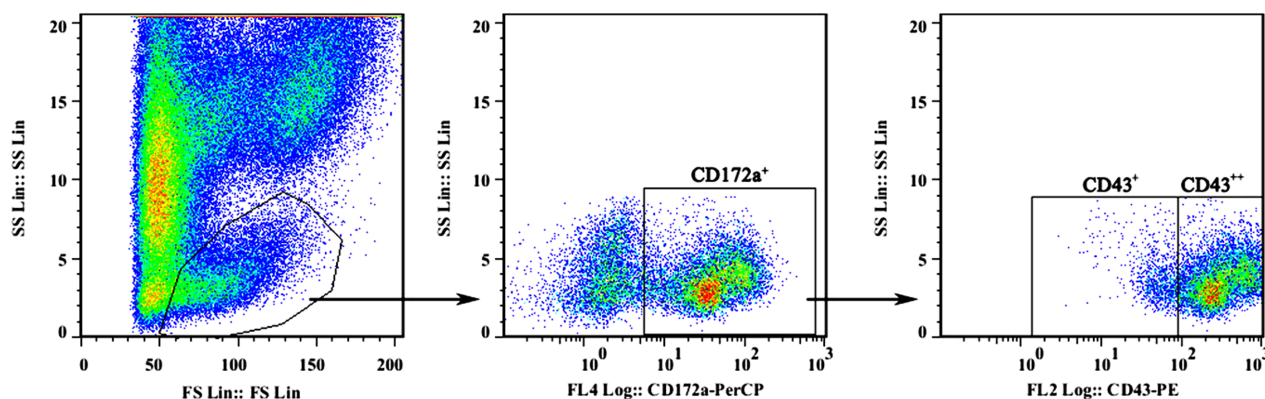


图1 SHR外周血单核细胞亚群流式细胞术设门方法

Figure 1 The gating strategy used for analysis of the monocyte subsets in SHR

1.2.4 SHR心肌组织病理染色分析 大鼠左室横截面心肌组织经石蜡包埋后,切为5 μm厚的切片进行天狼猩红(观察心肌间质及血管周的纤维化程度)、WGA(观察心肌细胞横截面积)及CD68免疫组织化学染色(观察心肌间质巨噬细胞浸润程度)。天狼猩红染色后的切片在偏振光显微镜下经数字CCD获取图像后,利用Image Pro Plus 5.0分析软件对图像进行半定量分析,计算胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)和血管周胶原面积/管腔面积(perivascular collagen area/lumen area, PVCA/LA); WGA染色后的切片经荧光显微镜获取图像,利用Image Pro Plus 5.0分析软件对心肌细胞横截面积(cell sectional area, CSA)进行分析。CD68免疫组织化学染色后经光学显微镜获取图

像,在400倍视野下计数CD68阳性细胞数目,每张切片选取5个视野,其平均值纳入统计分析。

1.2.5 统计学处理 应用SPSS18.0进行统计学分析,连续型变量以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本t检验,组内比较采用配对t检验,CD43⁺⁺单核细胞亚群与各指标的相关性采用Pearson相关性分析,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组大鼠一般资料的比较

在12周饮食干预结束时,HS组SBP明显增高,SBP及HR均显著高于LS组,差异有统计学意义(P<0.05);与LS组相比,HS组LVM及LVMI显著增高,BM明显减轻,差异均有统计学意义(P<0.05)。见表1。

表1 各组大鼠处死前基本资料的比较结果

Table 1 The baseline characteristics of the different groups

$\bar{x} \pm s$

组别	干预前 BS			干预 12 周末				
	BM/g	HR/(次·min ⁻¹)	SBP /mmHg	BM/g	LVM/g	LVMI/(mg·mm ⁻¹)	HR/(次·min ⁻¹)	SBP /mmHg
LS 组	171.60±17.40	397.50±7.73	167.70±3.56	290.80±4.52	1.26±0.02	25.40±0.43	378.30±9.69	172.60±1.51
	173.20±24.90	402.20±8.85	173.80±4.31	274.00±5.34 ¹⁾	1.42±0.03 ¹⁾	29.00±0.64 ¹⁾	424.70±8.50 ¹⁾	181.40±2.14 ¹⁾²⁾

1 mmHg=0.133 kPa。与同时段LS组比较,¹⁾P<0.05;²⁾与组内干预前BS比较,²⁾P<0.05。

2.2 2组大鼠外周血单核细胞亚群比例的比较

在12周饮食干预结束时,HS组CD43⁺⁺单核细胞亚群比例明显高于LS组,CD43⁺单核细胞亚群比例明显减低,差异均有统计学意义(均P<0.05),见图2a,b;2组间两时间点单核细胞亚群差值的比较,差异亦有统计学意义(P<0.05),见图

2c,d;与基线水平相比,HS组在12周饮食干预结束时CD43⁺⁺单核细胞亚群比例明显高,CD43⁺单核细胞亚群比例明显减低,差异均有统计学意义(均P<0.05),见图2a,b;LS组各单核细胞亚群比例与基线相比虽均有改变,但差异均无统计学意义(均P>0.05),见图2a,b;此结果说明在高盐诱导

的高血压性左室重塑过程中伴随着 CD43⁺⁺ 单核细胞亚群比例的增多,与 CD43⁺⁺ 单核细胞亚群主

要在损伤修复及组织重塑中起作用的功能特点相一致。

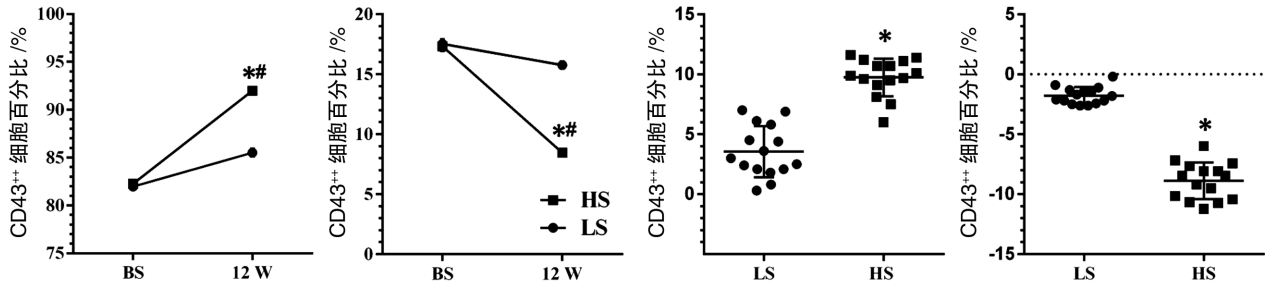


图 a、b:2 组大鼠在不同时间点各单核细胞亚群比例的比较结果;图 c、d:2 组大鼠各单核细胞亚群比例 12 周与 BS 水平差值的比较结果。与同时段 LS 组比较,¹⁾ P<0.05;与组内干预前 BS 比较,²⁾ P<0.05。

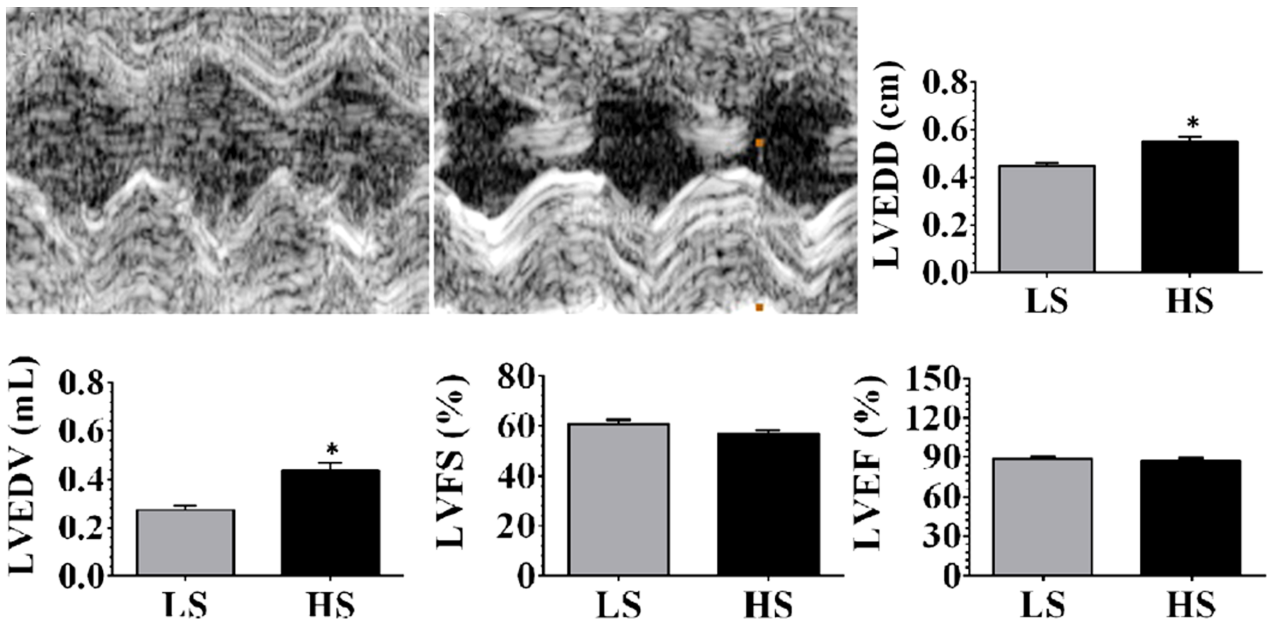
图 2 2 组大鼠不同时间点外周血单核细胞亚群分析

Figure 2 The results of monocyte subsets at different time points in the two groups

2.3 2 组大鼠超声指标的比较

与 LS 组相比,HS 组左心室腔在饮食干预结束时出现了明显的扩张,图 3a、b;统计结果可以看出,HS 组 LVEDD 及 LVEDV 显著高于 LS 组,差

异均有统计学意义(P<0.05),见图 3c、d;而 2 组间 LVFS 及 LVEF 值比较差异均无统计学意义(P>0.05),见图 3e、f。



a、b:代表性超声图片;c~f:各指标间的比较。与同时段 LS 组比较,¹⁾ P<0.05。

图 3 2 组大鼠超声指标的比较

Figure 3 The comparison of echocardiography parameters in the two groups

2.4 2 组大鼠病理染色结果的比较

2 组大鼠左室组织切片,WGA 染色结果显示 HS 组存在显著的心肌细胞肥大,CSA 显著高于 LS 组,差异有统计学意义(P<0.05),见图 4a、e;天狼猩红染色结果显示,饮食干预 12 周时,HS 组出现心肌间质和血管周明显的纤维化,代表间质纤维化程度的 CVF 及代表血管周纤维化程度的 PV-

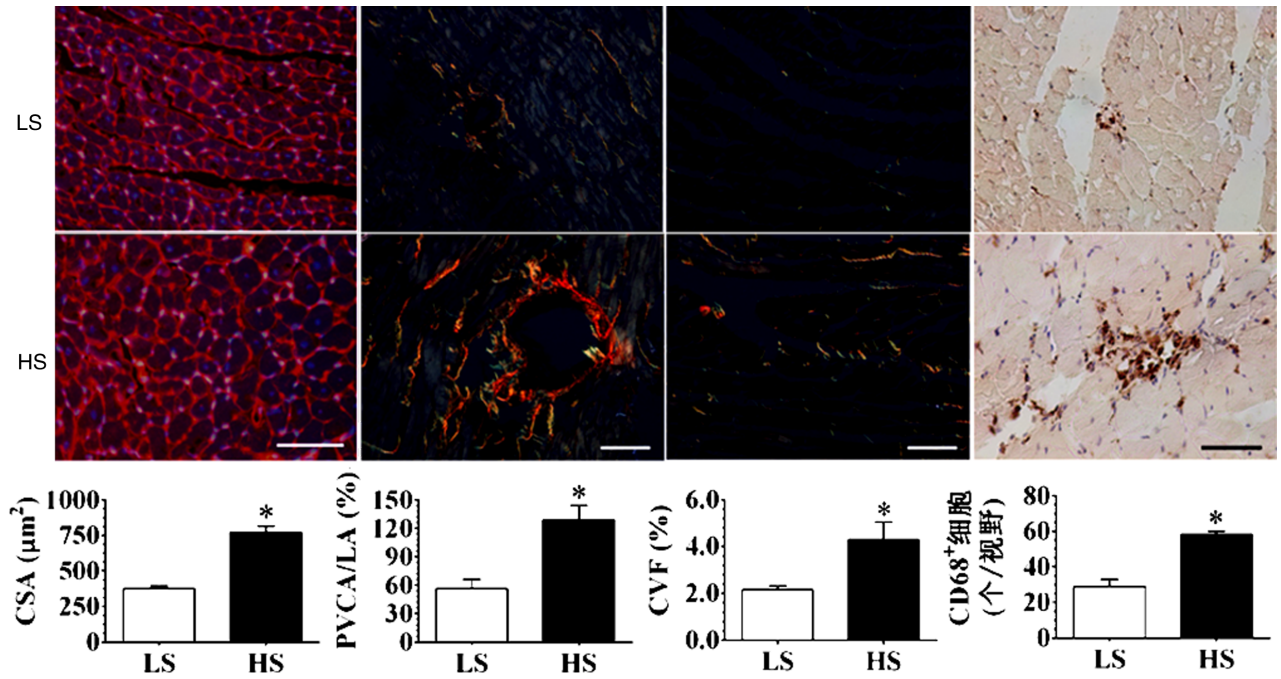
CA/LA 均显著高于 LS 组,差异有统计学意义(P<0.05),见图 4b、c、f、g;同时,与 LS 组相比,HS 组心肌间质出现了明显的巨噬细胞浸润,差异有统计学意义(P<0.05),见图 4d、h。

2.5 SHR 大鼠 CD43⁺⁺ 单核细胞亚群与各指标的相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示,除 LVEF 和

LVFS 外, 饮食干预结束时外周血 CD43⁺⁺ 单核细胞亚群与 SBP、LVM、LVMI、LVEDD、LVEDV、CVF、PVCA/LA、CSA 及心肌间质 CD68⁺ 巨噬细胞

数目均呈正相关关系, 结果均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5。



a, e: 2 组大鼠心肌 WGA 染色的代表性图片及其比较结果; b, c, f, g: 2 组大鼠心肌 PSR 染色代表性图片及其比较结果, 其中 b, f 为血管周纤维化程度及比较结果, c, g 为心肌间质纤维化程度及比较结果; d, h: 2 组大鼠心肌 CD68 免疫组化染色代表性图片及其比较结果。标尺代表 100 μm ; 与同时段 LS 组比较, $^{*}P < 0.05$ 。

图 4 2 组大鼠病理指标的分析结果

Figure 4 The comparison of pathological parameters in the two groups

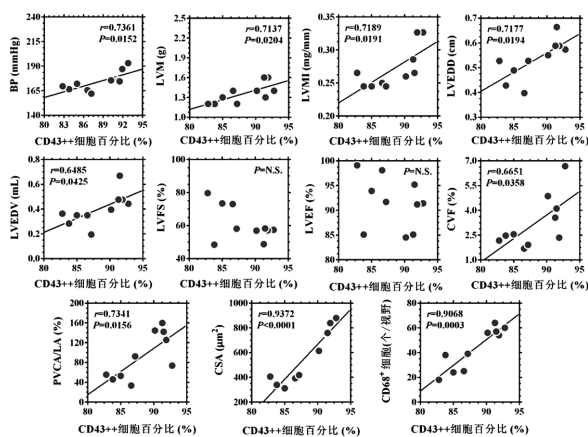


图 5 CD43⁺⁺ 单核细胞亚群比例与各指标的 Pearson 相关性分析结果

Figure 5 The correlation analyses of CD43⁺⁺ monocyte subsets and other parameters

3 讨论

本研究以 SHR 为研究对象, 给予不同浓度食盐饮食干预 12 周, 观察高盐诱导的高血压性左室重塑与外周血单核细胞亚群变化的关系。主要得到以下结果: ①高盐饮食干预 12 周引起 SBP 的显

著增高及 BM 的减轻, 血压增高的同时, 高盐饮食干预的大鼠处于消耗状态; ②HS 组左室质量明显增加, 伴随着左室的扩大、心肌纤维化程度的加重及心肌细胞的肥大, 说明左室重塑程度的加重; ③HS 组外周血 CD43⁺⁺ 单核细胞亚群比例明显增加, 伴随着心肌间质巨噬细胞浸润程度的增加, 说明 MP 可能在这一过程中发挥着重要作用; ④外周血 CD43⁺⁺ 单核细胞亚群比例与左室重塑相关指标呈正相关关系, 亦说明 MP 参与了左室重塑进程。

MP 包括循环中的单核细胞和组织中固有的巨噬细胞, 是固有免疫系统的重要组成部分。大量研究证实, MP 在表型和功能上存在异质性。大鼠循环中单核细胞分为经典型 CD43⁺ 单核细胞 (相当于人 CD14⁺⁺ CD16⁻ 单核细胞, 小鼠 Ly6C⁺ 单核细胞) 和非经典型 CD43⁺⁺ 单核细胞 (相当于人 CD14⁺ CD16⁺⁺ 单核细胞, 小鼠 Ly6C⁻ 单核细胞)。CD43⁺ 单核细胞具有促炎表型, 在炎症、吞噬和细菌清除中起主要作用; CD43⁺⁺ 单核细胞具有抑制炎症表型, 主要在损伤修复、组织重塑和免疫调节中起作用^[11-13]。高血压本身是一个低度的慢性炎

症过程,这一过程主要以逐渐引起心肌纤维化和左室重塑为主,是一个以非典型单核细胞起主导作用的病理生理过程;另外,高盐摄入作为机体的一种应激刺激,短期内会引起经典单核细胞的增多,长期的高盐刺激会引起经典单核细胞比例的减低及非典型单核细胞比例的明显增加,进而加重左室重塑^[14-16]。笔者之前的人群研究观察了短期高盐摄入对外周血单核细胞亚群变化的影响,证实急性高盐刺激主要以炎症型的单核细胞亚群(CD14⁺⁺CD16⁻亚群)增高为主^[11]。而本研究发现,随着高盐饮食干预时间的延长及高血压发展进程的不断推进,修复型的CD43⁺⁺单核细胞亚群比例逐渐增加,炎症型的CD43⁺单核细胞亚群比例逐渐减低,而且CD43⁺⁺单核细胞亚群比例与心肌纤维化、左室肥大及巨噬细胞浸润程度呈正相关,一方面说明CD43⁺⁺单核细胞亚群参与了左室重塑过程,是高血压性左室重塑过程中起主导作用的亚群;另一方面也说明机体为了对抗长期高盐及高血压刺激,代偿性地促进CD43⁺⁺单核细胞亚群的增殖及心肌间质巨噬细胞的浸润,引起左室重塑,这一改变在一定程度上适应了高水平血压的需要,保证正常的心脏功能;但刺激因素长期存在势必会导致机体的失代偿,最终引起心脏功能的不全和心力衰竭。另外,本研究中还发现HS组反映心脏功能的LVFS和LVEF已开始下降,HS组心脏功能由高动力循环到逐渐下降的过程,说明高盐饮食干预12周已经开始了左室重塑由代偿向失代偿的转变,与之前的研究结果一致^[17]。

总之,本研究以不同浓度盐负荷的SHR为研究对象,探讨CD43⁺⁺单核细胞亚群比例与高血压性左室重塑的相关性,结果表明CD43⁺⁺单核细胞亚群在这一病理过程中扮演着重要角色,这一发现为将来以单核细胞为靶点的干预研究指明了方向。

参考文献

- [1] Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2017, 135(10): e146-e603.
- [2] 陈伟伟, 高润霖, 刘力生, 等.《中国心血管病报告 2015》概要[J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(6): 521-528.
- [3] Adrogue HJ, Madias NE. Sodium and potassium in the pathogenesis of hypertension: focus on the brain[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2017, 26(2): 106-113.
- [4] Sawant SH, Bodhankar SL. Flax lignan concentrate reverses alterations in blood pressure, left ventricular functions, lipid profile and antioxidant status in DOCA-salt induced renal hypertension in rats[J]. *Ren Fail*, 2016, 38(3): 411-423.
- [5] Ling YH, Krishnan SM, Chan CT, et al. Anakinra reduces blood pressure and renal fibrosis in one kidney/DOCA/salt-induced hypertension[J]. *Pharmacol Res*, 2017, 116: 77-86.
- [6] Heine GH, Ortiz A, Massy ZA, et al. Monocyte subpopulations and cardiovascular risk in chronic kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2012, 8(6): 362-369.
- [7] 杨国红, 卢芮伊, 孙海英, 等. 四色流式分析冠心病患者外周血单核细胞亚群及单核细胞-血小板聚集体的变化[J]. *临床心血管病杂志*, 2013, 29(1): 29-33.
- [8] 周颖, 汪小君, 罗燕薇, 等. 循环单核细胞亚群联合肾功能对急性ST段抬高心肌梗死患者预后危险分层的评估[J]. *临床心血管病杂志*, 2017, 33(6): 534-539.
- [9] Yang GH, Zhou X, Ji WJ, et al. Overexpression of VEGF-C attenuates chronic high salt intake-induced left ventricular maladaptive remodeling in spontaneously hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306(4): H598-609.
- [10] 卢芮伊, 周欣, 姬文婕, 等. 单核细胞亚群在大鼠心肌缺血再灌注模型中的动态变化及意义[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(2): 131-134.
- [11] Zhou X, Zhang L, Ji WJ, et al. Variation in dietary salt intake induces coordinated dynamics of monocyte subsets and monocyte-platelet aggregates in humans: implications in end organ inflammation[J]. *PloS one*, 2013, 8(4): e60332.
- [12] Krychtiuk KA, Lenz M, Koller L, et al. Monocyte subset distribution is associated with mortality in critically ill patients[J]. *Thromb Haemost*, 2016, 116(5): 949-957.
- [13] Larson SR, Atif SM, Gibbins SL, et al. Ly6C(+) monocyte efferocytosis and cross-presentation of cell-associated antigens[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(6): 997-1003.
- [14] Szelényi Z, Fazakas ?, Szénási G, et al. Inflammation and oxidative stress caused by nitric oxide synthase uncoupling might lead to left ventricular diastolic and systolic dysfunction in patients with hypertension[J]. *J Geriatr Cardiol*, 2015, 12(1): 1-10.
- [15] Xu Y, Chen Y, Li D, et al. Hypertension, fluid overload and micro inflammation are associated with left ventricular hypertrophy in maintenance hemodialysis patients[J]. *Ren Fail*, 2013, 35(9): 1204-1209.
- [16] Celik T, Fici F. The association between inflammation and left ventricular diastolic dysfunction in patients with hypertension: another piece of the puzzle[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2013, 23(6): e26-27.
- [17] Gao F, Han ZQ, Zhou X, et al. High salt intake accelerated cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats: time window of left ventricular functional transition and its relation to salt-loading doses[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2011, 33(7): 492-499.