

脳内ナトリウム濃度変化による脳老廃物排泄機構の破綻とフレイル発症に関する研究 - 脳内ナトリウムによる脳卒中発症とサルコペニア -

長谷川 雄¹, 森岡 基浩², 梶原 壮翔²

¹国際医療福祉大学福岡薬学部薬学科, ²久留米大学医学部脳神経外科

概要

研究目的:高塩分食は高血圧率を有意に増加し脳卒中を発症させることが知られている。一方脳内のナトリウム環境の変化自体が細胞毒性を発揮し、フレイルと関連する脳卒中やサルコペニア発症に関与するか現時点では明らかではない。今回我々は、高血圧ラットの脳内におけるナトリウム環境を変化させ、脳卒中やフレイルの発症が有意に生じるか、また、ナトリウム濃度の変化による血管毒性により脳血管の狭窄や脳血管反応性の低下など脳血管の静的・動的異常が惹起され、脳老廃物排出低下と関連するか、高血圧ラットを用いて検討した。

研究方法:11 週齢の脳卒中易発症高血圧自然発症(spontaneously hypertensive stroke-prone:SHRSP)ラットを、コントロール群としての人工髄液(アトセレブ)群(art, n=10)と生理食塩水投与群(n=30)に分けた。後者はさらに 1) 0.9%生理食塩水投与群(S, n=10), 2) 2.7%生理食塩水投与群(low-S, n=10), 3) 9%生理食塩水投与群(high-S, n=10)に分けた。Alzet 浸透圧ポンプ(Model2004)を皮下に埋め込み脳室投与キットと連結させた上で前述の溶液を 28 日間脳室内へ持続投与した。経過中、連日脳卒中の発症と死亡率を確認した。毎週の体重測定、投与 14 日後の血圧測定、投与 21 日後の Rotarod test と Beam walking test, 28 日後の脳卒中関連症状を反映する Symptom score を計測した。28 日目に深麻酔下に開頭を行い、脳表血管の解剖学的変化、脳血管反応性、脳と下肢筋重量、脳浮腫を測定した。

研究結果:体重は art 群と比し生食投与群では増加不良であった。血圧値は生食投与群で差は認めなかったが、投与前からの上昇率では S 群と比べ high-S 群で有意に増加した(S group, $97 \pm 3\%$; low-S group, $100 \pm 3\%$; high-S group, $108 \pm 3\%$)。Rotarod test と Beam walking test では明らかな差は認めなかった。脳卒中発症や死亡率には群間で差は認めないものの、生食投与群では発症率は高かった。脳血管構造、脳血管反応、脳重量、四肢重量、脳浮腫は各群で差を認めなかった。なお、各溶液の pH は S 群 5.83, low-S 群 5.66, high-S 群 5.65 であった。

結論:SHRSP ラットにおいて高濃度生理食塩水の持続投与は血圧の軽度上昇に関与する。しかし、既に交感神経活動が上昇している高血圧症では、脳内ナトリウム濃度が上昇してもその影響は大きくなく、高血圧性臓器障害に相加するような病的変化は表出しない可能性が示唆された。

1. 研究目的

高塩分食による高血圧発症が明らかとなり様々な減塩の啓蒙活動が以前より広く行われている。その結果、塩分と高血圧管理の重要性が認識され、日本人の塩分摂取量と高血圧率は低下し、脳卒中死亡率は昭和 40 年代をピークに減少した。しかしながら、高齢化社会の中で脳卒中

発症自体は年々少しずつ増加しており、特にそのリスクが高い高血圧患者における脳卒中発症や血圧上昇のメカニズムにおける塩分の影響について、ブラックボックスを埋めていくことが今後も重要となる。

高血圧発症を介する作用とは別に、塩分摂取が直接脳毒性を持つことの研究は現在のトピックである。塩分摂取

が直接(つまり血圧上昇を介さず)認知症や脳卒中の発症に影響するかという問いに対する答えは現在まで明らかではないものの、塩分摂取が小腸でインターロイキン 17 を産生させた結果、それが全身を循環することで脳血管内皮細胞障害や脳血管機能低下を惹起し認知機能を低下することが近年報告された¹⁾。また、ナトリウムは血液脳関門を通過しないものの、その構造が脆弱な終板や脳弓下器官が血中ナトリウムや血漿浸透圧の上昇を感知し、視床下部室傍核への電氣的投射を介して吻側延髄腹外側野へその情報を伝え、結果的に交感神経活動を活性化し、脳毒性を示すとも考えられている^{2) 3)}。さらに、塩分摂取によりアルツハイマー脳のタウタンパク過剰リン酸化や脳血流低下を惹起されることが最近報告された⁴⁾。これらの報告は、ナトリウム上昇により何らかの直接的な脳毒性が惹起され、脳内環境の変化による健康寿命への悪影響が及ぼされる可能性を示唆している。

我々は、アンギオテンシン II や歯周病菌が脳室内で持続曝露されると、心血管病だけでなくサルコペニアが認められることを報告した^{5) 6)}。認知症では脳内の老廃物を排泄する役目を担う脳血流低下や脳血管拡張能低下が認められるが^{7) 8)}、そのメカニズムは、老廃物除去など脳の恒常性を管理している脳血管周囲マクロファージがアンギオテンシン II 等による酸化ストレスや慢性炎症により活性化され、脳血管反応低下を惹起することだと報告されている⁹⁾。脳内の恒常性の破綻は遠隔臓器にまで波及し、健康寿命に悪影響を及ぼす可能性ある、

以上、本研究目的は、「脳内のナトリウム環境の変化は脳内の老廃物排泄を担う脳血管への毒性を発揮し、フレイルと関連する脳卒中やサルコペニアの発症に直接関与する」という仮説を実証することとした。本研究を実験的に検討するために、0.9%、2.7%、9%の生理食塩水(生食)を高血圧ラットの脳室内に 28 日間持続投与して、脳卒中とサルコペニアの表現型を観察した。

2. 研究方法

2. 1. 実験動物

11 週齢のオス脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(spontaneously hypertensive stroke-prone rat:SHRSP)40 匹(体重 238-270 g)を、対照群の人工髄液投与群(art 群, n=10)と生食投与群(n=30)に分けた。生食投与群はさらに、1) 0.9% Na 生食投与群(S 群, n=10)、2) 2.7% Na 生食

投与群(low-S 群 n=10)、3) 9% Na 生食投与群(high-S 群, n=10)の 3 群に分け、各溶液投与後 28 日目をエンドポイントと設定、以下の実験を行った。なお、人工髄液はアートセレブ(0.85% Na, pH 約 7.3, Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc., Tokushima)を使用した。

2. 2. 持続脳室内投与

我々がこれまでに行って来た直接脳毒性を調べるための実験系を本研究でも適応し、以下の方法で前述の水溶液を脳室内に持続投与した。Alzet minipump (Model 2004, Durect Co, Cupertino CA, USA)に各々の溶液を充填し、Alzet brain infusion キット(kit 2, Durect Co)に連結した。2%のイソフルラン麻酔下に腹臥位にて体位を確保後、右側背部の皮膚を切開し皮下ポケットと皮下トンネルを設けた。次に頭皮を正中切開、Bregma から 2 mm lateral, 1 mm posterior に穿頭ドリルまたは 18G 針を利用して穿頭、速乾性接着剤を用いて穿刺針を頭蓋骨に固定した。穿刺針は頭蓋骨表面から 4 mm の深さで固定した。その後型の通り閉鎖し、イソジン消毒と 1 mg/kg の鎮痛剤メロキシカムを皮下注射して手術を終了した。

2. 3. 血圧測定

無加温型非観血式血圧計(Muromachiikai Co. Ltd)を用いて、脳室内投与開始前と開始後約 2 週間後に、尾動脈の脈圧を利用して血圧測定を行った。

2. 4. 脳卒中関連症状の出現 (Symptom score)

1)-4)の溶液投与前より食餌・飲水投与を行いながら、連日脳卒中関連症状を確認し Symptom score として以下のように点数化した¹⁰⁾。6 点—正常, 5 点—軽度の活動量の低下/上昇, 4 点—明らかな活動量の低下/上昇, 3 点—両下肢麻痺または不随意運動, 2 点—ほとんど動かない, 1 点—立つことができない, 0 点—死亡。なお、脳卒中発症については 4 点以下を脳卒中発症有りとした。

2. 5. Beam walking test

筋力や協調運動を調べるため、脳室内投与約 3 週間後に梁上に置き最大 1 分間歩行させ、その距離や動きに応じて以下のようにスコアリングした。0 点—落下, 1 点—落下しないもののほとんど動かない, 2 点—歩行して落下, 3 点—歩行するも 20 cm 以下, 4 点—20 cm 以上歩行。合計 3 回行いその平均値を計算した。

2. 6. Rota rod test

筋力や協調運動を計測するために、脳室内投与約3週間後に Rotarod test を施行した(MK-630B, Muromachi kikai Co. Ltd, Tokyo, Japan)。初めに1分間につき4回転の定速でトレーニングを行った後、1分間に4~40回転まで加速する円筒から落下する時間を計測、合計3回の平均値を計算した。

2. 7. 脳表血管の動的变化

28日間の脳室内持続投与終了日、イソフルレンを用いて十分な麻酔管理を行い、小動物用ステレオタキシク(Muromachi kikai Co. Ltd)を用いて頭部を固定した。頭皮を切開し bregma を基準に左頭蓋骨を 2x2 cm に開窓、硬膜外から脳表の血管を露出しカメラ付き顕微鏡を用いて同部の写真を撮影した。

2. 8. 脳血流

ノンコンタクト式レーザードップラーを開頭した硬膜外上に留置した。アセタゾラミド 30 mg/kg を腹腔内投与し、経時的に脳血流を計測した。15分間計測したうち最も上昇した値を選び、血流の上昇率を計算した。

2. 9. 臓器重量

深麻酔下に断頭し、速やかに全脳と下肢筋(腓腹筋+ヒラメ筋)を摘出、重量を測定した。

2. 10. 脳浮腫

脳浮腫を評価すべく、脳水分含量(Brain water content)を測定した。摘出した大脳半球を bregma の吻側・尾側に分けた後に左右大脳半球に切離することに加え小脳と脳

幹を切離した。そのうち左大脳半球、小脳、脳幹について、できるだけ迅速にその重量を計測(wet weight)し 105°Cのオーブンに 72 時間静置させて再度重量を計測した(dry weight)。BWC は、以下の計算方法で算出した。 $BWC = (\text{wet weight} - \text{dry weight}) / (\text{wet weight}) \times 100\%$ ¹⁰⁾。

2. 11. 統計学的手法

全てのデータは平均±標準誤差で記載した。統計学的手法において、脳卒中発症率、生存率は Kaplan Meier 法に加え log rank 検定と χ^2 検定を用いた。群間比較において、S 群との対比較を行うべく、Dunnett 検定または Shirley-Williams 検定を行った。

3. 研究結果

3. 1. 体重

経過中 SHRSP の体重を1週間毎に計測したところ、art 群では経時的な体重増加を認めたものの、生食群では濃度非依存性に体重の増加不良を認めた(Fig. 1A)。エンドポイント時の体重は各群で S 群と有意差は認めなかった(S 群 256 + 12g, n=6; low-S 群 248 + 15g, n=10; high-S 群 243 + 11g, n=9; art 群 289 + 33g, n=9)(Fig. 1A and B)。

3. 2. 血圧

血圧について、art 群では機器の準備ができず血圧測定ができなかったため、生食投与 3 群間での比較を行った。投与 14 日後血圧値は変化なかったものの、high-S 群では S 群と比べ血圧上昇率が有意に高かった(S 群 97 + 3%, n=10; low-S 群 100 + 3%, n=10, high-S 群 108 + 3%, n=10)(Fig. 1C and D)。

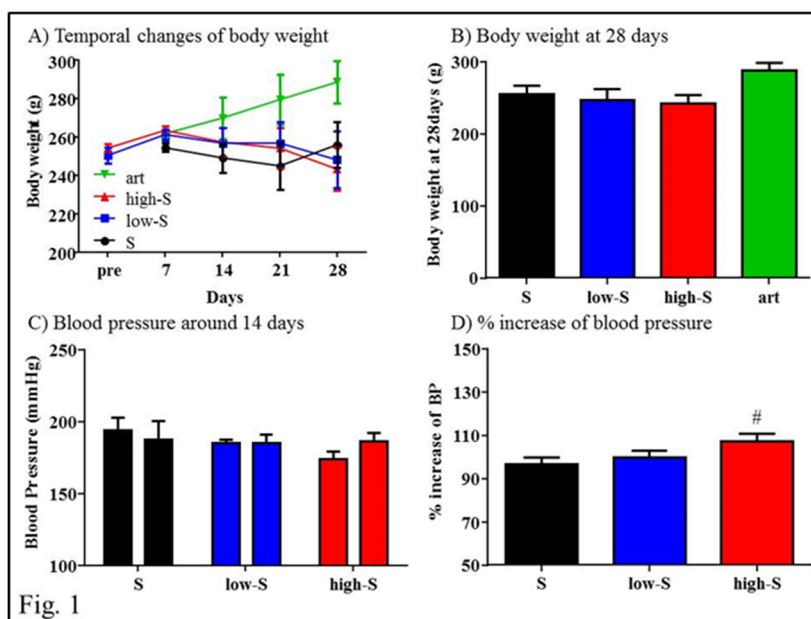


Fig. 1: Temporal changes of body weight of surviving SHRSP (A), Body weight at 28 days of surviving SHRSP (B), Blood pressure around 14 days after the start of ICV injection (C), and % increase of blood pressure between the pre ICV and around 14 days post-ICV treatment. Abbreviations used include BP, blood pressure; ICV, intracerebroventricular; S, saline. Values are mean + SEM. # indicates $p < 0.05$ vs. S group.

3. 3. 筋力, 協調運動, 脳卒中関連症状

サルコペニアや脳卒中発症に伴う筋力低下や協調運動を調べた。その結果, 投与 21 日後の Beam walking test (S 群 2.7 ± 0.3 , n=8; low-S 群 3.0 ± 0.2 , n=10; high-S 群 2.7 ± 0.3 , n=10; art 群 3.1 ± 0.2 , n=10), Rotatod test (S 群 41 ± 13 , n=8; low-S 群 42 ± 10 , n=10; high-S 群 48 ± 12 , n=10; art 群 44 ± 9 , n=10)において, 生存した SHRSP では有意な低下は認めなかった (Fig 2A and B)。一方, 脳卒中関連症状は生食投与後より徐々に認められるようになった (Fig. 2A)。それは生食の濃度非依存性に出現し, 高濃度の生食投与で最も高く (S 群 50%; low-S 群 50%; high-S 群 70%), art 群でも 20%の発症を認めた (Fig. 2C and D)。

3. 4. 生存率, 脳血流, 臓器重量, 脳表血管, 脳浮腫

生存率について, 有意差は無いものの, S 群に最も多い死亡率が認められた (40%)。high-S 群, art 群はそれぞれ 1 匹死亡 (10%), low-S 群は経過中全ての SHRSP が生存した (Fig 3 A)。アセタゾラミド投与後の脳血流上昇率は, 生食投与群では art 群と比べ明らかな違いは認められなかった (S 群 $121 \pm 14\%$, n=4; low-S 群 $95 \pm 4\%$, n=5; high-S 群 112 ± 8 , n=4; art 群 109 ± 7 , n=4) (Fig. 3B)。脳重量は各群で差は無く (S 群 $2.0 \pm 0.1g$, n=6; low-S 群 $2.0 \pm 0.02g$, n=10; high-S 群 $2.0 \pm 0.04g$, n=9; art 群 2.0

$\pm 0.03g$, n=9) (Fig. 3C), 腓腹筋とヒラメ筋を合わせた下肢筋重量についても統計学的な差は認めなかった (S 群 $1.4 \pm 0.1g$, n=6; low-S 群 $1.4 \pm 0.1g$, n=10; high-S 群 $1.4 \pm 0.1g$, n=9; art 群 $1.6 \pm 0.1g$, n=9) (Fig. 3D)。脳浮腫も左大脳半球, 小脳, 脳幹において各群間で有意差は認めなかった (S 群 $81.8 \pm 0.9\%$, n=6; low-S 群 $80.6 \pm 0.3\%$, n=10; high-S 群 $80.9 \pm 0.4\%$, n=9; art 群 $80.5 \pm 0.3\%$, n=9) (Fig. 4A-C)。なお, 脳表血管では, 皮質動脈, 脳軟膜動脈, 脳静脈を含め, 群間に明らかな解剖学的相違は認めなかった (data not shown)。

3. 5. 脳浮腫, pH

生食群の pH はそれぞれ S 群 5.83, low-S 群 5.66, high-S 群 5.65 であった (各群 n=2) (Fig. 4D)。

4. 考 察

本研究において, 「脳内のナトリウム環境の変化が脳血管毒性を発揮し脳内老廃物排出能低下によりフレイルと関連する脳卒中やサルコペニアの発症に直接関与する」と仮説を立て実験を計画した。その結果, 負荷後の血圧が軽度ではあるが有意に上昇した以外, 脳の老廃物排泄に重要な脳血管収縮や血管反応性には変化無く, 脳卒中発症やサルコペニアの発症率は最終的には統計学的に不顕性な変化に留まった。

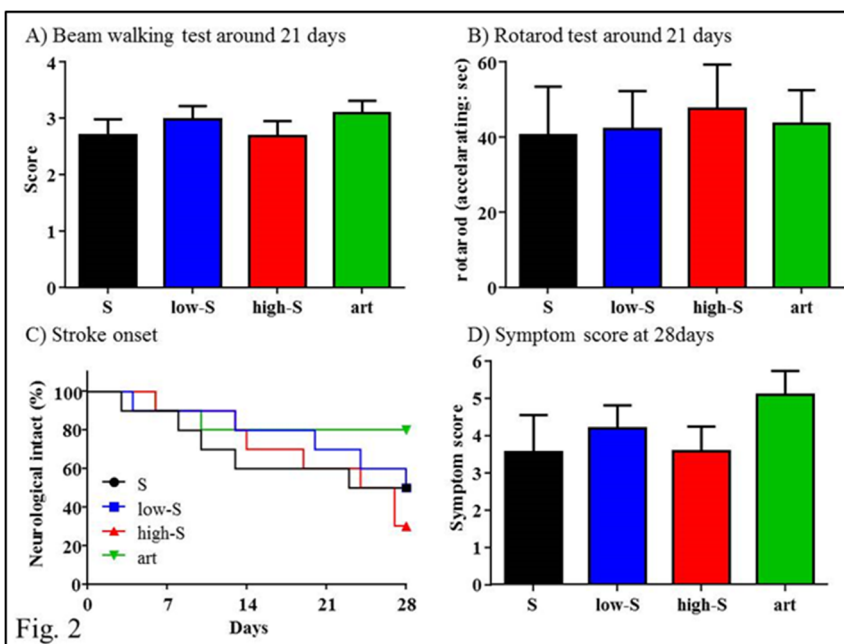


Fig. 2: Beam walking test around 21 days (A), Rotarod test around 21 days (B), temporal changes of the rate of stroke onset (C), and symptom score at 28 days after ICV injection. Abbreviations used include ICV, intracerebroventricular; S, saline. Values are mean \pm SEM.

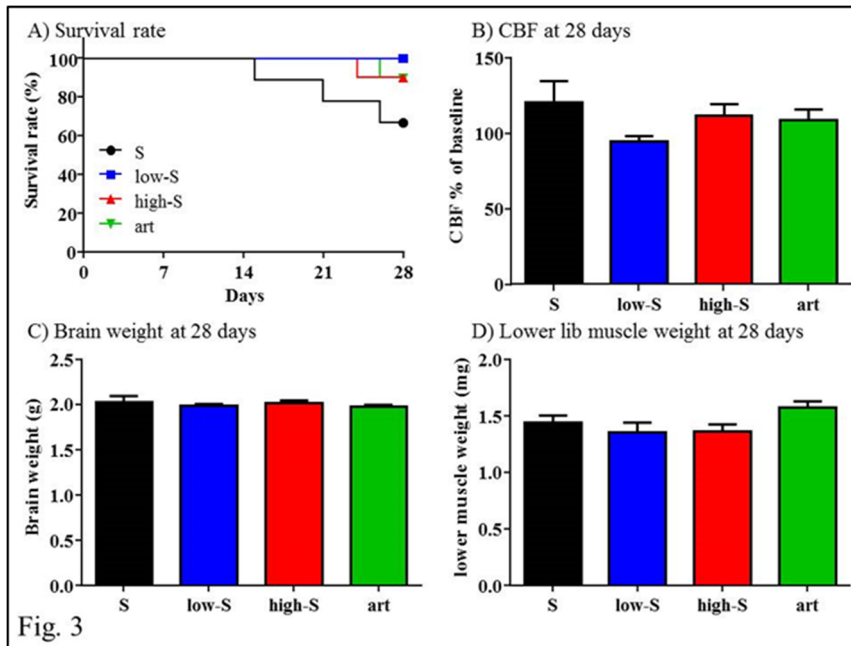


Fig. 3: Temporal changes of the rate of survival rate (A), % increase of CBF by acetazolamide (B), brain (C) and lower muscle (D) weight at 28 days after ICV injection. Abbreviations used include CBF, cerebral blood flow; ICV, intracerebro -ventricular; S, saline. Values are mean \pm SEM.

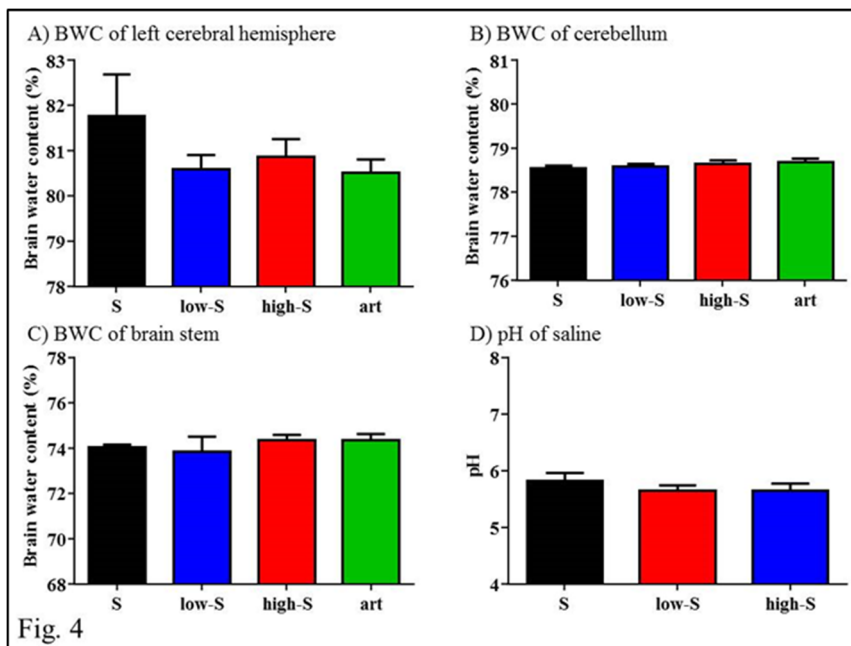


Fig. 4: The values of BWC of left cerebral hemisphere (A), cerebellum (B), and brain stem (C) at 28 days after ICV injection. The values of pH in saline injection groups (D). Abbreviations used include BWC, brain water content, S, saline. Values are mean \pm SEM.

4. 1. 血圧とナトリウム分布

今回我々が行った実験系について、髄液循環を考慮すると脳室内に投与した水溶液は脳室からくも膜下腔を循環し尿として排出される。高血圧ラット3ヵ月齢の脳脊髄液腔は約250 μ lと報告されており¹¹⁾、それから推計ラットの1日の脳脊髄液産生量を750 μ lとすると、生食投与群の脳脊髄液内ナトリウム濃度についてS群は146 mEq/L, low-Sは148 mEq/L, high-S群は156 mEq/Lとなる。我々のhigh-S群と同程度のナトリウム脳室内負荷を行った

Huangらの報告によると¹²⁾、血中のナトリウム濃度に変化は無かったものの血圧は20 mmHg程度上昇した。一方、ナトリウムの髄液内負荷を行った他の報告でも血圧は12-15 mmHg上昇しており、我々の結果もそれらと遜色は無い。今回の実験系ではHuangらの報告を参照し、高濃度の脳室内生食投与はその循環の過程でナトリウム濃度は薄まり、血中では正常化することが考えられるため、本実験系で認められる表現型は脳毒性による一義的なものと考えることができる。従ってこの血圧上昇は、全身臓器

に負の影響を与え得る反応として位置づけられる。

4. 2. 脳卒中発症

脳内の生食投与により血圧は上がっており、脳卒中発症や脳卒中関連症状は高濃度の生食投与にて増加することが予想された。しかしながら、本研究結果ではS群と比べ濃度依存性に有意な脳卒中が発症することは無かった。以前我々は高血圧モデルラットに8%の高塩分食を食餌負荷すると、血圧上昇だけでなく交感神経の活性化も生じ、そのどちらも脳卒中発症には重要であることを報告した^{13) 14)}。興味深いことに、脳内の高濃度ナトリウム負荷は腎交感神経活動を抑制し、レニン活性も低下させる可能性が報告されている¹⁵⁾。今回の研究結果で認められた所見は、血圧上昇による脳卒中発症の増加が交感神経活性の低下により相殺されたのかもしれない。特にSHRSPでは交感神経活動がすでに活性化されている為、腎交感神経活動の抑制がより強く表出された可能性も考えられる。また、協調運動、脳血管の形態的異常、脳血管反応、脳重量、脳浮腫についても何ら異常は表出されなかったことから、脳内ナトリウム上昇による脳毒性に対し脳は感受性が低い可能性も考察される。一方、人工髄液投与と比べて脳卒中発症が増加する可能性について、アートセブレは生食と比べて脳に愛護的であること以外¹⁶⁾、pHの違いや生食投与による電解質の影響も考えられるが、浸透圧ポンプで投与される溶液量は1日に6 µlでありラットの脳脊髄液産生量の100分の1程度であることから、それらの影響は無視できるのではないかと考えている。

4. 3. サルコペニア

今回のサルコペニアの検討では、Rotarod test, Beam walking testで筋力、筋重量で筋量を推計したが、art群と比べ有意差は無いものの筋重量は低下しており、体重の増加も抑制された。エンドポイントを延長すれば、有意なサルコペニアが認められた可能性も考えられる。近年認知症と除脂肪体重の低下との関連が指摘されており、脳健康はサルコペニアの抑制に重要な要素と考えられている。以前の我々の報告より、アンギオテンシンIIの28日間脳室内持続投与は、アルツハイマー病モデルマウスの認知機能を低下しサルコペニアも誘発した⁵⁾。一方、歯周病菌内毒素の28日間脳室内持続投与は、アルツハイマー病モデルマウスの認知機能は低下しないにも関わらず、心筋障害とサルコペニアを惹起した⁶⁾。脳への様々な負

荷によるサルコペニアに対する表現型の違いは、前述のような交感神経活動への関与や、各介入に対する臓器感受性の違い、体循環における何らかの影響等があるせいかもしれない。

5. 今後の課題

今回高血圧ラットを用いて研究を行った。SHRSPラットにおいて高濃度生理食塩水の持続投与は血圧の軽度上昇に関与する。一方、脳卒中やサルコペニアが有意に生じなかったのは、SHRSPはすでに交感神経活動が活性化していることから、脳内ナトリウム上昇による交感神経活動の抑制効果が十分に発揮されたのかもしれない。つまり、既に交感神経活動が上昇している高血圧症では、脳内ナトリウム濃度が上昇してもその影響は小さくなく、高血圧性臓器障害に相加するような病的変化は表出しない可能性が示唆された。今後は正常血圧ラットであるWKYラットで同様の実験を行って脳卒中の発症や血圧への関与を検討したり、エンドポイントを延長してサルコペニアに対する表現型を確認したりして、脳のナトリウムの役割にさらにアプローチしていこうと考えている。

6. 文献

1. Faraco G, Brea D, Garcia-Bonilla L, Wang G, Racchumi G, Chang H, et al.: Dietary salt promotes neurovascular and cognitive dysfunction through a gut-initiated th17 response. *Nat Neurosci* 21:240-249,2018
2. Chen QH, Toney GM: At(1)-receptor blockade in the hypothalamic pvn reduces central hyperosmolality-induced renal sympathoexcitation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281:R1844-1853,2001
3. Toney GM, Chen QH, Cato MJ, Stocker SD: Central osmotic regulation of sympathetic nerve activity. *Acta Physiol Scand* 177:43-55,2003
4. Faraco G, Hochrainer K, Segarra SG, Schaeffer S, Santisteban MM, Menon A, et al.: Dietary salt promotes cognitive impairment through tau phosphorylation. *Nature* 574:686-690,2019
5. Takane K, Hasegawa Y, Lin B, Koibuchi N, Cao C, Yokoo T, et al.: Detrimental effects of centrally administered angiotensin ii are enhanced in a mouse model of alzheimer disease independently of blood

- pressure. *J Am Heart Assoc* 6,2017
6. Hayashi K, Hasegawa Y, Takemoto Y, Cao C, Takeya H, Komohara Y, et al.: Continuous intracerebroventricular injection of porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide induces systemic organ dysfunction in a mouse model of alzheimer's disease. *Exp Gerontol* 120:1-5,2019
 7. Uekawa K, Hasegawa Y, Senju S, Nakagata N, Ma M, Nakagawa T, et al.: Intracerebroventricular infusion of angiotensin-(1-7) ameliorates cognitive impairment and memory dysfunction in a mouse model of alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 53:127-133,2016
 8. Hasegawa Y, Toyama K, Uekawa K, Ichijo H, Kim-Mitsuyama S: Role of ask1/p38 cascade in a mouse model of alzheimer's disease and brain aging. *J Alzheimers Dis* 61:259-263,2018
 9. Park L, Uekawa K, Garcia-Bonilla L, Koizumi K, Murphy M, Pistik R, et al.: Brain perivascular macrophages initiate the neurovascular dysfunction of alzheimer a β peptides. *Circ Res* 121:258-269,2017
 10. Hasegawa Y, Nakagawa T, Uekawa K, Ma M, Lin B, Kusaka H, et al.: Therapy with the combination of amlodipine and irbesartan has persistent preventative effects on stroke onset associated with bdnf preservation on cerebral vessels in hypertensive rats. *Transl Stroke Res* 7:79-87,2016
 11. Al-Sarraf H, Philip L: Effect of hypertension on the integrity of blood brain and blood csf barriers, cerebral blood flow and csf secretion in the rat. *Brain Res* 975:179-188,2003
 12. Huang BS, Veerasingham SJ, Leenen FH: Brain "ouabain," ang ii, and sympathoexcitation by chronic central sodium loading in rats. *Am J Physiol* 274:H1269-1276,1998
 13. Nakagawa T, Hasegawa Y, Uekawa K, Ma M, Katayama T, Sueta D, et al.: Renal denervation prevents stroke and brain injury via attenuation of oxidative stress in hypertensive rats. *J Am Heart Assoc* 2:e000375,2013
 14. Hasegawa Y, Takemoto Y, Hayashi K, Kamen K, Kim-Mitsuyama S: The endogenous and exogenous brain-derived neurotrophic factor plays pivotal roles in the pathogenesis of stroke onset in high salt-loaded hypertensive rats. *Exp Gerontol* 147:111286,2021
 15. May CN, McAllen RM: Brain angiotensinergic pathways mediate renal nerve inhibition by central hypertonic nacl in conscious sheep. *Am J Physiol* 272:R593-600,1997
 16. Doi K, Kawano T, Morioka Y, Fujita Y, Nishimura M: Various irrigation fluids affect postoperative brain edema and cellular damage during experimental neurosurgery in rats. *Surg Neurol* 66:565-571; discussion 571-562,2006

Influence of Brain Sodium Concentration for the Washout of Waste Products from Brain and Onset of Frail.

Subtitle: Stroke Onset and Sarcopenia by Brain Sodium

^{1,2}Yu Hasegawa, ²Sosho Kajiwara, ²Motohiro Morioka

¹Department of Pharmaceutical Science, School of Pharmacy at Fukuoka, International University of Health and Welfare, ²Department of Neurosurgery, Kurume University School of Medicine.

Summary

Background and purpose: High sodium intake induces hypertension, resulting increase of stroke onset. However, it is undetermined whether high concentration of brain sodium is cytotoxic and provides enhancement of frail including stroke onset and sarcopenia. We herein examined the role of brain sodium on the stroke onset and sarcopenia using hypertensive rats.

Methods: Eleven-week-old male spontaneously hypertensive stroke-prone rats (SHRSP) were divided into 1) artificial cerebrospinal fluid (artcereb) injection group (art, n=10) and saline injection group (n=30). The SHRSP in the latter group were further assigned to the following 3 groups; 1) 0.9% saline injection group (S, n=10), 2) 2.7% saline injection group (low-S, n=10), 3) 9% saline injection group (high-S, n=10). Continuous intracerebroventricular administration with those 4 solutions was performed using osmotic minipump (Alzet model 2004) and the brain infusion kit. The animals were monitored stroke onset and mortality every day for 28 days. In addition, they were evaluated body weight, blood pressure, coordination and motor activity by rotarod and beam walking test, stroke related symptom by symptom score in appropriate time points. Then, we evaluated their cortical vascular morphology, vasoreactivity by administration of acetazolamide, weight of brain and lower limb muscle, and brain water content at 28 days after the administration.

Results: Although body weight in the art group was increased through 28 days, that in the saline injection groups was not changed. The value of blood pressure in saline injection groups was similar, but % increase from the preinjection in high-S group was significantly elevated in comparison with that in S-group (S group, $97 \pm 3\%$; low-S group, $100 \pm 3\%$; high-S group, $108 \pm 3\%$). Rotarod and beam walking test at 21 days and symptom score at 28 days were not changed among the groups. Although there were no significant changes of stroke onset and mortality among the groups, the former was frequently seen in saline injection groups compared with art group and the latter in S group was highest than that in other 3 groups. There were no significant changes in brain phenotypes such as cortical vascular morphology, vasoreactivity, brain weight, and brain water content, and also in the weight of lower limb muscle among the groups. The values of pH in saline injection groups were 5.83 in S group, 5.66 in low-S group, and 5.65 in high-S group (the value of pH in artcereb were 7.3 according to the attached document).

Conclusions: In hypertensive rats, continuous intracerebroventricular administration of saline in various concentration induced little phenotypes on stroke and sarcopenia, although the slight elevation of blood pressure in higher brain sodium concentration. Based on those result, we concluded that brain sodium provided relatively weak effect on hypertensive organ dysfunction in hypertensive rats which already show significant upregulation of sympathetic nerve activity.