

## 母体の食塩過剰摂取は子供の食塩感受性を亢進する

### — どの時期にどの程度の食塩を摂取すると子の心血管機能に影響を及ぼすか —

籠田 智美<sup>1</sup>, 丸山 加菜<sup>1</sup>, 篠塚 和正<sup>1</sup>, Bruce N. Van Vliet<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 武庫川女子大学薬学部, <sup>2</sup> メモリアル大学医学部

**概要** 我々はこれまでに、本態性高血圧モデルである高血圧自然発症ラット(SHR)を用いて、胎児期および授乳期に高食塩(4% NaCl)食を負荷すると、動脈の一酸化窒素(NO)に対する拡張能および心室の収縮・拡張能が減弱すること、血圧が低くなることを見出した(助成研究 1231)。この動脈拡張障害は、若齢 SHR を高食塩(8% NaCl)食で飼育した際に生じる機能障害と一致していることから、胎児期から授乳期にかけて高食塩食を負荷すると、離乳後の食塩摂取にかかわらず、循環機能障害が生じることをしめしている。そこで本研究では、食塩の濃度や負荷時期によって影響が変化するかを検討した。

妊娠期から授乳期にかけて高食塩(6% NaCl)食または正常食(0.3% NaCl 含有)を与えた母 SHR より生まれた仔(HH 群または NN 群)および妊娠期は高食塩食を授乳期には正常食を与えた母 SHR より生まれた仔(HN 群)を 4 週齢で離乳し、正常食を与えて 8 週間飼育した。飼育 7 週目に収縮期血圧を非加温式 tail-cuff 法を用いて測定し、飼育 8 週目にマグヌス法およびランゲンドルフ灌流心法を用いて胸部大動脈および心臓(左心室)の収縮および拡張能を測定し、比較検討した。

離乳後正常食飼育 7 週後(11 週齢)の収縮期血圧は、HN 群および HH 群では NN 群に比べ低値を示した。飼育 8 週後(12 週齢)の胸部大動脈における NO に対する拡張反応性は、NN 群に比べ HN 群および HH 群では減弱しており、その程度は同程度であった。一方、左室の収縮および拡張能は、NN 群に比べ HN 群では減弱傾向が、HH 群では有意な減弱が認められた。胎児期および授乳期の 6% NaCl 食負荷により生じる血圧低下と動脈拡張能減弱の程度は、4% NaCl 食負荷に比べ強いこと、心機能の減弱の程度には食塩濃度による差は見られなかった。

以上のことから、妊娠期の食塩過剰摂取が、子の心血管機能を減弱させる要因となることが明らかとなった。また、授乳期に食塩摂取を控えた場合、血管系への影響に差は見られないものの心臓への影響が一部軽減されたことから、授乳期のみでも食塩を控える意味があると考えられる。

#### 1. 研究目的

血圧上昇の要因のひとつとして、食塩の過剰摂取がある。これまでの多くの検討は“一代限り”の影響が主であり、母体が食塩を過剰摂取した場合、すなわち、胎児期や授乳期に食塩にさらされた場合、“子”の血圧調節機能が影響を受けるか否かを検討した報告は少ない。これまでの実験動物を用いた検討では、妊娠期に高食塩食を負荷した母ラットからの仔は、体重が小さい、血圧が高めである、食塩による血圧上昇の程度が正常食を摂取した母体の仔

に比べて高い<sup>(1-4)</sup>などの報告がある。これらのことは、母体が妊娠期や授乳期に食塩を過剰摂取することは、子の食塩感受性を亢進する要因となる可能性を示していると考えられる。しかし一方で、母体の食塩摂取は、仔の血圧には影響しない<sup>(5-9)</sup>とする報告もあり、いまだコンセンサスは得られていない。さらに、心機能と末梢血管抵抗によって血圧が調節されるが、母体の食塩過剰摂取による仔の循環器系臓器(心臓や動脈の収縮および拡張能)への影響について詳細に検討した報告はほとんどない。

食塩による血圧上昇機序の1つとして、血管抵抗性の調節異常が知られている。我々はこれまでに、本態性高血圧症のモデル動物である高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rat, SHR) では、成体は食塩感受性が低いとされているが、若齢(4週齢)より高食塩(8% NaCl)食で飼育すると、血圧のさらなる上昇と一酸化窒素(NO)を介した動脈拡張能の減弱が生じることを見いだし、その機序として、血管平滑筋の可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC, NO受容体)発現の減少が関与することを明らかにしてきた<sup>(10)</sup>。さらにこのような効果は、食塩摂取により引き起こされた血圧上昇による二次的なものではなく、食塩の摂取によって惹起されることを明らかにしている<sup>(11)</sup>。そこで、助成研究1231では、母体の食塩過剰摂取は、子の動脈拡張能を障害すると仮説を立て検証した。その結果、胎児期から授乳期にかけて高食塩(4% NaCl)食を負荷した場合、離乳後に食塩を摂取しなくとも、動脈のNOを介した拡張能の減弱が生じることを見出した<sup>(12)</sup>。このことは、出生後に食塩を節制したとしても、血管機能においては食塩過剰摂取と同様の機能障害がすでに生じていることを示している。さらに、血管機能障害に加えて、心臓(左室)の収縮および拡張能にも機能低下が生じ、血圧が低下することを見出している<sup>(12)</sup>。そこで本研究では、さらに、母体がどの時期にどの程度の食塩を摂取すると子の心血管機能に影響を及ぼすかを明らかにするため、以下の検討を行う。

本研究では、母体の食塩摂取時期に着目し、妊娠期から授乳期にかけて、または、妊娠期にのみ、高食塩(6% NaCl)食を摂取した場合、仔の循環機能への影響が変化するか否かを検討することにより、仔の心血管機能に与える「母体の食塩摂取時期による影響の違い」について考察する。また、母体に負荷する食塩濃度を本研究では6% NaCl食とし、以前の検討で用いた4% NaCl食によって生

じる影響(助成研究1231)との違いを比較検討することにより、「母体が摂取する食塩濃度による影響の違い」について考察する。

## 2. 研究方法

### 2.1 使用動物

今回実験に使用した動物の飼育条件を **Table 1** に示した。日本 SLC より、ラット用固形飼料(正常食, 0.3% NaCl 含有)または 6% NaCl 含有固形飼料(高食塩食)にて雌性本態性自然発症ラット(SHR)を飼育し、生まれた雄性仔 SHR を離乳直後(4週齢)に購入した。仔ラットに正常食を与えて8週間飼育し、以下の実験に使用した。飼育期間中、餌および水は自由摂取とした。なお、母体 SHR は、交配1週間前より離乳直後まで、正常食または高食塩食を自由摂取させた(**Table 1**)。本実験の計画および実施は、武庫川女子大学動物実験規定を遵守した。

### 2.2 測定項目

飼育期間中は、摂餌量および摂水量を毎日測定し、ラット1匹あたりまたは体重あたりの相対量を算出した。体重は週に2度測定した。4週に一度、無加温式 tail-cuff 法 (Model MK-2000, Muromachi Kikai Co., Ltd., Tokyo, JAPAN)を用いて、無麻酔下に収縮期血圧および心拍数を5回連続して測定し、安定し測定できた3回の値を平均してデータとした。8週間の飼育終了時、ペントバルビタール麻酔下に、体重、腹部周囲径および体長を測定した後、腹部を開腹し、注射筒および注射針を用いて膀胱より採尿し、尿中タンパクおよび尿糖を尿試験紙 (Uropaper III, Eiken Chemical Co., Ltd., Tochigi, JAPAN)を用いて測定した。その後、腹部大動脈から全血を採取することにより放血死させ、直ちに、胸部大動脈および心臓を摘出した。

摘出動脈は、動脈周囲組織を取り除き、幅約3mmのリング状標本を作成、95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>ガスを通気した

**Table 1. Experimental design**

Group (n)	Fetal period	Lactation period	Post-wearing (from 4 to 12 wks)
NN (7)	Normal salt diet	Normal salt diet	Normal salt diet
HN (7)	<b>High salt diet</b>	Normal salt diet	Normal salt diet
HH (7)	<b>High salt diet</b>	<b>High salt diet</b>	Normal salt diet

Normal salt diet, a standard rodent chow MF diet (0.3% NaCl); High salt diet, 6% NaCl;

n, number; wks, weeks of age

Krebs-Henseleit 液で満たしたオルガンバス内に静置張力 1 g を負荷して懸垂した。動脈標本をあらかじめフェニレフリンで収縮させた後、アセチルコリンまたはニトロプルシドを累積的に添加し、生じた張力変化を等尺性トランスジューサー (Model T7, NEC San-Ei, Tokyo, JAPAN) を用いて測定した。弛緩の程度は、パパペリンにより生じる最大弛緩反応を 100% とした弛緩率として算出した。各標本から得られた濃度-反応曲線から、50% 有効濃度 (EC<sub>50</sub>) および曲線下面積 (Area under the curve, AUC) を GraphPad Prism (ver. 4, San Diego, CA, USA) を用いて算出し、拡張反応性を評価した。

摘出心臓は、直ちにランゲンドルフ装置 (IPH-L2A, Primetech Co., Tokyo, JAPAN) に装着し、大動脈へカニューレを挿入、95%O<sub>2</sub> - 5%CO<sub>2</sub> ガスを通気した Krebs-Henseleit 液を 80 mmHg 定圧条件下に還流した。左室にバルーンを挿入し、左室収縮期圧 (LVSP) および拍動数を圧トランスジューサー (SAFT1, Kawasumi Lab., Inc., Tokyo, JAPAN) を用いて測定した。左室収縮能の指標として、LVSP を心重量で除し左室収縮能 (LV systolic function, LVSF) を算出した。一方、左室拡張能の指標と

して、左室内圧時間積分値 (-dP/dt) を算出し、心重量で補正した左室拡張能 (LV diastolic function, LVDF) を算出した。冠流量 (Coronary flow) の指標として、心臓より排出された還流液を回収し、時間あたりの灌流量 (coronary flow rate, CFR) を算出した。なお、心重量は、心機能測定終了後、周囲組織を取り除き、心房および心室を切り分け、湿重量を測定した。

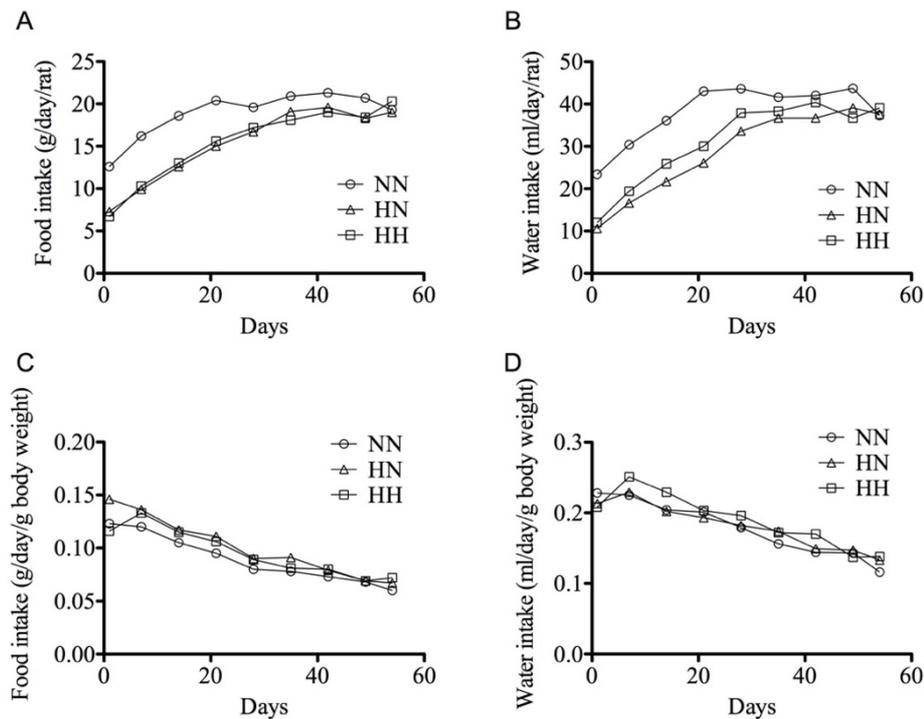
## 2.3 データ解析

データは平均値 ± 標準誤差で示した。群間の差の検定は、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行い Bonferroni 法により検定し、P < 0.05 の場合に有意な差であると示した。

## 3. 研究結果

### 3.1 体重および血圧に及ぼす母体食塩摂取の影響

飼育期間中のラット 1 匹あたりの摂餌量および摂水量は、高食塩を負荷した母 SHR からの仔 (HN 群および HH 群) では、正常食を摂取した仔 (NN 群) に比べ少なかったが、飼育後半にはその差は小さくなった (Fig. 1A, 1B)。一方、体重あたりの摂餌量および摂水量には、群間に差は



**Fig. 1.** Changes in food intake (A, C) and water intake (B, D) in the normal-salt (0.3% NaCl) diet-fed offspring from dams fed the high-salt (6% NaCl) diet during fetal and lactation period (HH), from dams fed the high-salt diet during fetal period and the normal-salt diet during lactation period (HN), and from control dams (NN) after weaning.

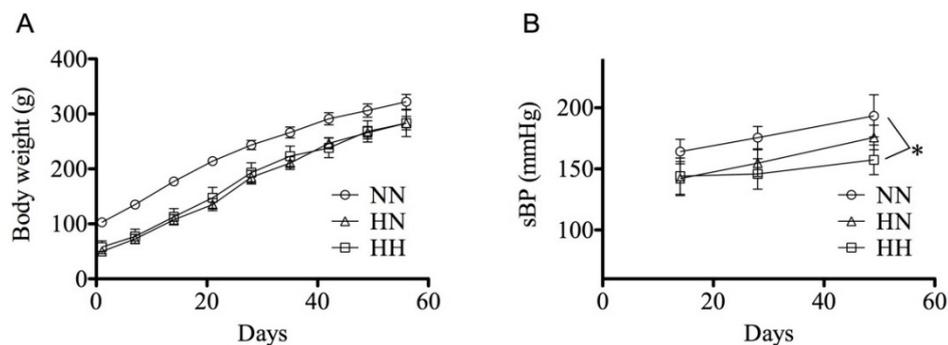
なかった (Fig. 1C, 1D)。離乳時, すなわち, 飼育開始時 (0 day) の体重は, HN 群および HH 群で有意に軽かった (Fig. 2A, Table 2)。以前の 4% NaCl 食を用いた研究では, 離乳時の体重が約 10 g 軽かったのに比べ, 今回の 6% NaCl 食ではより大きな差であった。飼育期間中は, HN 群および HH 群ともに NN 群に比べ低い値を維持しており, 飼育 8 週後における体重も両群ともに有意に小さかったが, 群間に差はみられなかった (Fig. 2A, Table 2)。なお, 4% NaCl 食負荷の場合は, 飼育 8 週後の体重は逆転し約 10 g 大きかった。腹部周囲—体長比には群間に差はなく, 尿タンパクおよび尿糖はすべての群で検出されなかった (data not shown)。

無加温式 tail-cuff 法により測定した収縮期血圧は, 高食塩食を負荷した母 SHR からの仔 (HN 群および HH 群) では低い傾向が認められ, 飼育 8 週目には HH 群では

NN 群に比べ有意に低かった (Fig. 2B, Table 2)。この結果は, 4% NaCl 食を用いた以前の結果と同様であったが, その程度は食塩濃度が高いほど大きかった (4% NaCl 食: HH 群では NN 群に比べ約 10 mmHg 低い)。一方, 心拍数は, NN 群に比べ, HN 群では減少傾向が, HH 群では有意な減少がみられた (Table 2)。

### 3. 2 動脈拡張能に及ぼす母体食塩摂取の影響

摘出胸部大動脈におけるニトロプルシドにより生じる血管内皮非依存性弛緩反応, すなわち, 血管平滑筋細胞の NO に対する拡張反応性においては, HN 群および HH 群では NN 群に比べ同程度に減少していた (Fig. 3, Table 3)。NO に対する拡張性の減弱は, 4% NaCl 食を負荷した場合には減弱傾向であったことから, 食塩濃度が高いほど減弱程度は顕著であると考えられる。



**Fig. 2.** Changes in body weight (A) and systolic blood pressure (B, by the tail-cuff methods) in the normal-salt (0.3% NaCl) diet-fed offspring from dams fed the high-salt (6% NaCl) diet during fetal and lactation period (HH), from dams fed the high-salt diet during fetal period and the normal-salt diet during lactation period (HN), and from control dams (NN) after weaning.

**Table 2.** Effects of maternal dietary salt intake on body weight, systolic blood pressure (sBP), and heart rate in conscious rats at initial (4 weeks of age) and final (12 weeks of age) points

Group (n)	Body weight (g)		sBP (mmHg)	Heart rate (beats/min)
	Initial	Final	Final	
NN (7)	103 ± 2	322 ± 5	193 ± 7	394 ± 13
HN (7)	49.9 ± 2.6*	283 ± 5*	176 ± 4	370 ± 11
HH (7)	57.7 ± 4.4*	283 ± 9*	157 ± 5*	331 ± 22*

NN, the normal-salt (0.3% NaCl) diet-fed offspring of dams fed normal-salt diet during fetal and lactation period; HN, the normal-salt diet-fed offspring of dams fed the high-salt (6% NaCl) diet during fetal period and the normal-salt diet during lactation period; HH, the normal-salt diet-fed offspring of dams fed the high-salt diet during fetal and lactation period.

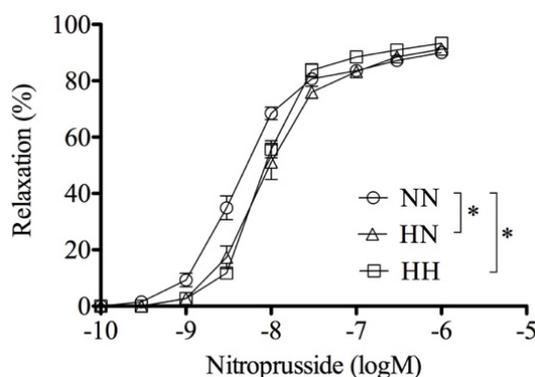
\*P<0.05, vs. NN group

**Table 3.** Effects of maternal dietary salt intake on vasodilation in aortas at 12 weeks of age (8 weeks after weaning).

Group (n)		NN (7)	HN (7)	HH (7)
Nitroprusside	-Log EC <sub>50</sub>	8.34 ± 0.08	8.10 ± 0.08*	8.09 ± 0.02*
	AUC	243 ± 7	227 ± 7	236 ± 6

NN, the normal-salt (0.3% NaCl) diet-fed offspring of dams fed normal-salt diet during fetal and lactation period; HN, the normal-salt diet-fed offspring of dams fed the high-salt (6% NaCl) diet during fetal period and the normal-salt diet during lactation period; HH, the normal-salt diet-fed offspring of dams fed the high-salt diet during fetal and lactation period.

\*P<0.05, vs. NN group

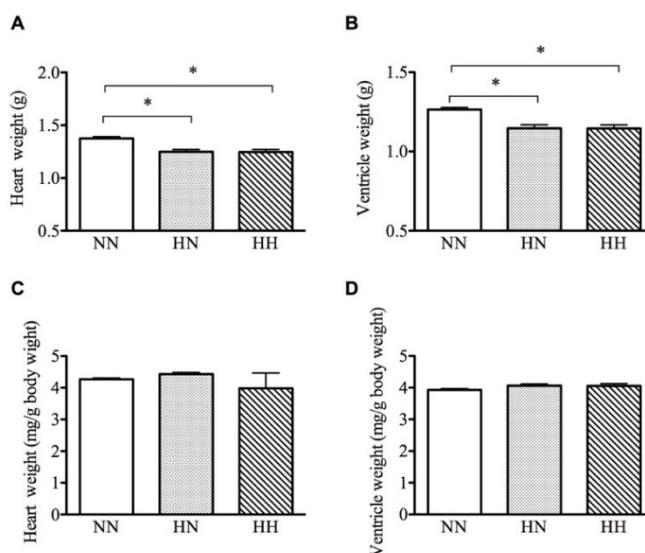


**Fig. 3.** Changes in vasodilation in response to nitric oxide in isolated aortas of the normal-salt (0.3% NaCl) diet-fed offspring from dams fed the high-salt (6% NaCl) diet during fetal and lactation period (HH), from dams fed the high-salt diet during fetal period and the normal-salt diet during lactation period (HN), and from control dams (NN) at 12 weeks of age (8 weeks after weaning).

### 3. 3 心機能に及ぼす母体食塩摂取の影響

正常食で飼育した8週目の心重量は、胎児期に高食塩食を负荷したHN群およびHH群ではNN群に比べ有意な減少が認められ、その程度は両群に差はみられなかった(**Fig. 4A**)。同様に、心室重量も有意に減少していた(**Fig. 4B**)。上述のように、HN群およびHH群で体重減少がみられたことから、体重で除した相対値として検討したところ群間差が消失した(**Fig. 4C, 4D**)。このことから、心重量の減少は体重減少に伴うものであると推察される。一方、4% NaCl 食を负荷した以前の検討では、心重量(実質および相対とも)に差は見られなかった。

ランゲンドルフ灌流心法により測定した左室収縮能は、妊娠期に高食塩食を摂取した母SHRからの仔(HN群およびHH群)ではNN群に比べ有意に減弱しており、その



**Fig. 4.** Changes in heart (A, C) and ventricle weight (B, D) in the normal-salt (0.3% NaCl) diet-fed offspring from dams fed the high-salt (6% NaCl) diet during fetal and lactation period (HH), from dams fed the high-salt diet during fetal period and the normal-salt diet during lactation period (HN), and from control dams (NN) at 12 weeks of age (8 weeks after weaning).

程度はHN群に比べHH群で強くなる傾向がみられた(**Fig. 5A**)。一方、左室拡張能においても収縮能と同様に、HN群およびHH群でNN群に比べ減弱しており、HH群の減弱が顕著であった(**Fig. 5B**)。HN群およびHH群に観察された体重減少に伴う心重量の減少(**Fig. 4**)を考慮して、心重量で除したLVSFおよびLVDFを算出したところ、両値ともに、HN群では減少傾向が、HH群では有意な減少が認められた(**Fig. 5C, 5D**)。また、心室重量で除した場合にも同様の結果が認められた(data not shown)。このことから、心機能の減少は、心臓の大きさに伴う現象

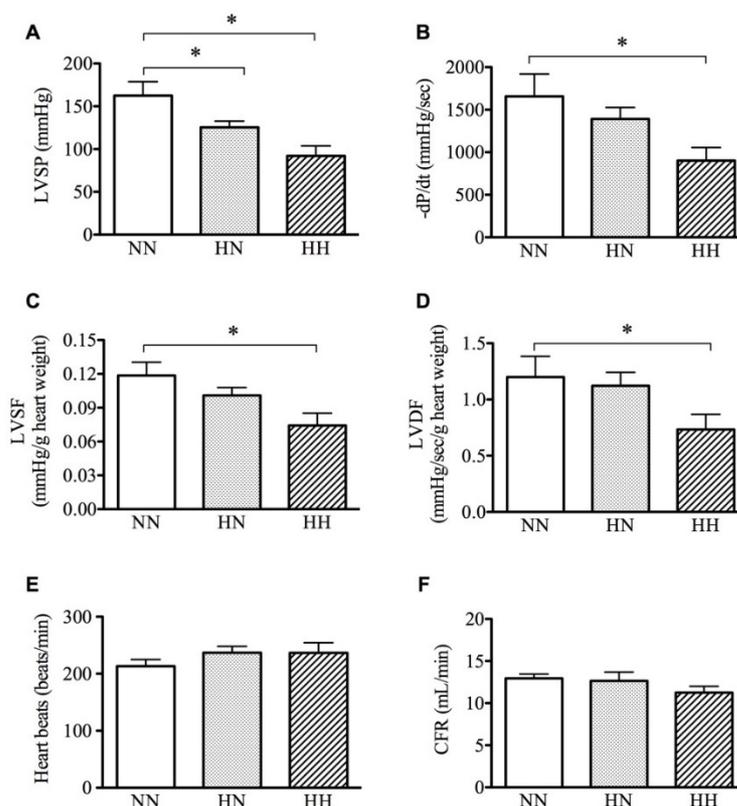
ではなく、心筋の機能変化であると考えられる。胎児期から授乳期にかけて高食塩食を負荷することにより生じる心機能の減弱は、4% NaCl 食を用いた以前の研究においても同様に観察されており、いずれの高食塩食の場合においても HH 群では NN 群の約 2/3 程度に減弱していた。すなわち、母体の食塩摂取量の違いによる効果に大きな違いはなく、むしろ摂取時期が重要であると考えられる。一方、冠流量や拍動数においては、群間に有意な差はみとめられなかった (Fig. 5E, 5F)。この結果は 4% NaCl 食を用いた場合と同様であった。

#### 4. 考察および今後の課題

食塩の過剰摂取は血圧上昇の一要因であり、その発現には遺伝素因や環境因子が深く関与している。このことか

ら、母体の食塩過剰摂取が、仔の血圧調節系に影響を及ぼす重要な因子となる可能性は高い。我々はこれまでに、本態性高血圧症の動物モデルである SHR を用いて、胎児期から離乳期にかけて食塩 (4% NaCl 食) を負荷すると、動脈拡張能と心室機能が減弱し、収縮期血圧が低下することを見いだしている (助成研究 1231)。さらに本研究において、食塩の摂取時期や濃度を検討した結果、胎児期から離乳期にかけて負荷する食塩濃度が高い程、血圧や血管機能に与える影響が大きいこと、授乳期に食塩を節制することにより、心機能へ与える影響が軽度ではあるが軽減できることを示唆した。

胎児期にのみ、胎児期から授乳期に、授乳期にのみなど、母体に高食塩食を負荷する時期を変えて、仔の血圧や循環器系臓器機能に与える影響を比較検討した報告



**Fig. 5.** Changes in left ventricular (LV) cardiac function (A, LV developed pressure; B, maximum rate of LV pressure decline; C, LV systolic function; D, LV diastolic function), heart rate (E), and coronary flow rate (F) in the normal-salt (0.3% NaCl) diet-fed offspring from dams fed the high-salt (6% NaCl) diet during fetal and lactation period (HH), from dams fed the high-salt diet during fetal period and the normal-salt diet during lactation period (HN), and from control dams (NN) at 12 weeks of age (8 weeks after weaning).

は少ない。血圧への影響を検討した報告では、妊娠期から離乳までの間に 8% NaCl 食を負荷した **Borderline Hypertensive** ラット(SHR の亜型)の収縮期血圧は通常食(1% NaCl)に比べ高値を示すが、出生後から離乳までの間(授乳期)にのみ負荷したラットでは血圧上昇は見られないことから、授乳期の摂取は子の血圧調節系に影響するとは言えないとしている<sup>(4)</sup>。一方、胎児期にのみ約8%の NaCl 食を負荷した **Brattleboro** ラット(遺伝性中枢性尿崩症のモデルであるが、尿崩症を発症していないラットを使用している)の収縮期血圧は、正常食を負荷したラットに比べ低く、胎児期から授乳期にかけて負荷したラットと同程度であった<sup>(1)</sup>。これらのことは、血圧調節に影響する時期としては胎児期が重要であるように思われる。本研究では、胎児期から授乳期にかけて高食塩食を負荷した **HH** 群の収縮期血圧は、胎児期にのみ負荷した **HN** 群に比べ低くなる傾向が観察されたことから、胎児期のみでなく授乳期の影響も大きいと考えられる。一方、動脈機能への影響については、胎児期にのみ 8% NaCl 食を負荷した **Sprague-Dawley (SD)** ラットの腎動脈では、**sGC** 系弛緩経路の障害(**sGC** タンパク発現減少)によって血管収縮性が亢進する<sup>(13)</sup>との報告がある。また、胎児期から授乳期にかけて 8% NaCl 食を負荷した **SD** ラットの胸部大動脈においても同様に、**sGC** 経路障害が生じている<sup>(6)</sup>。本研究においては、胎児期にのみ高食塩食を負荷した **HN** 群の胸部大動脈において、胎児期から授乳期にかけて負荷した **HH** 群と同程度の **NO** に対する反応性(ニトロプルシドにより生じる弛緩反応)の減弱を認めた。これらのことから、動脈拡張能への影響は胎児期がより重要であると考えられる。また、心機能への影響については、胎児期から授乳期にかけて食塩を負荷した **HH** 群で最も影響が大きかった。このことは、心臓と動脈では影響を受ける時期が異なる可能性を示している。詳細については、今後の検討が必要である。心筋機能の異常(収縮・拡張能の減弱)のメカニズムとして、筋収縮に必要な細胞内  $Ca^{2+}$  濃度を調節する筋小胞体カルシウムポンプ(**SERCA**)やホスホランパンの異常が目ざされている。我々は、以前の研究で、胎児期から離乳期にかけて 4% NaCl 食を負荷した **SHR** の心筋では、**SERCA** 活性を促進するリン酸化ホスホランパンや収縮タンパク(アクチン)の発現が低下していることを見出し、これらの異常が心機能低下に関与していると考え

ている<sup>(12)</sup>。今回の検討において、胎児期から離乳期にかけて 6% NaCl 食を負荷することで生じた心機能低下の機序として、同様の現象が生じている可能性は高い。しかし、今回の検討で観察された授乳期に食塩負荷を中止した場合、心機能への影響が軽度になることは興味ある知見であり、今後、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度調節タンパク質や収縮タンパク質の発現量変化との関連性を検討したい。

一方、母体に負荷する食塩濃度による影響の違いについて検討した報告も多くはない。**SD** ラットを用いた検討では、低 NaCl 食(0.07%)および高 NaCl 食(3%)を離乳時まで与えた場合、中間 NaCl 食(0.51%)に比べ、収縮期血圧は同程度に高い<sup>(14)</sup>と報告されている。逆に、**SHR** を用いた検討では、低 NaCl 食(0.1%)、正常食(0.8%)または高 NaCl 食(3%)を胎児期から授乳期に与えた場合、正常食の収縮期血圧に比べ、低 NaCl 食では低く、高 NaCl 食では差はなかった<sup>(15)</sup>と報告されている。本研究では **SHR** を用いて検討したが、4% NaCl 食を負荷した以前の検討結果と比較して、6% NaCl 食負荷の方が収縮期血圧や動脈機能への影響は大きく、心機能への影響はほぼ同程度であった。臓器によって食塩濃度の影響の違いが生じることは興味深い結果であり、今後詳細な検討が必要である。

以上のことから、胎児期から離乳期にかけての食塩負荷は、動脈拡張能および心室収縮・拡張能の減弱を引き起こし、循環機能低下を招く危険性があること、これらの影響を回避するためには、特に、胎児期の食塩制限が効果的であると考えられる。また、離乳期のみでも食塩摂取を制限することで、心機能への影響は軽減できることが示唆された。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成をいただいた公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団に厚く御礼申し上げます。また、本研究の遂行にご協力いただいた武庫川女子大学薬学部薬理学 2 教室の和久田浩一博士、岩田紗季氏、深尾湧姫氏に感謝します。

## 5. 参考文献

1. Hazon N, Parker C, Leonard R, Henderson IW. Influence of an enriched dietary sodium chloride regime during gestation and suckling and post-natally on the

- ontogeny of hypertension in the rat. *J Hypertens.* 1988; 6: 517-24.
2. Contreras, R.J. High NaCl intake of rat dams alters maternal behavior and elevates blood pressure of adult offspring. *Am J Physiol.* 1993; 264: R296-304.
  3. Karr-Dullien V, Bloomquist E. The influence of prenatal salt on the development of hypertension by spontaneously hypertensive rats (SHR). *Proc Soc Exp Biol Med.* 1979; 160: 421-5.
  4. Hunt RA, Tucker DC. Developmental sensitivity to high dietary sodium chloride in borderline hypertensive rats. *Hypertension.* 1993; 22: 542-50.
  5. Dene H, Rapp JP. Maternal effects on blood pressure and survivability in inbred Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension.* 1985; 7: 767-74.
  6. Piecha G, Koleganova N, Ritz E, Müller A, Fedorova OV, Bagrov AY, Lutz D, Schirmacher P, Gross-Weissmann ML. High salt intake causes adverse fetal programming--vascular effects beyond blood pressure. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27: 3464-76.
  7. Balbi AP, Costa RS, Coimbra TM. Postnatal renal development of rats from mothers that received increased sodium intake. *Pediatr Nephrol.* 2004; 19: 1212-8.
  8. Di Nicolantonio R, Hoy K, Spargo S, Morgan TO. Perinatal salt intake alters blood pressure and salt balance in hypertensive rats. *Hypertension.* 1990; 15: 177-82.
  9. Porter JP, King SH, Honeycutt AD. Prenatal high-salt diet in the Sprague-Dawley rat programs blood pressure and heart rate hyperresponsiveness to stress in adult female offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 293: R334-42.
  10. Kagota S, Tamashiro A, Yamaguchi Y, Sugiura R, Kuno T, Nakamura K, Kunitomo M. Downregulation of vascular soluble guanylate cyclase induced by high salt intake in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol.* 2001; 134: 737-44.
  11. Kagota S, Tamashiro A, Yamaguchi Y, Nakamura K, Kunitomo M. High salt intake impairs vascular nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate system in spontaneously hypertensive rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002; 302: 344-51.
  12. Maruyama K, Kagota S, Van Vliet BN, Wakuda H, Shinozuka K. A maternal high salt diet disturbs cardiac and vascular function of offspring. *Life Sci.* 2015; 136: 42-51.
  13. Jiang L, Yin X, He A, Li L, Bo L, Zhou X, Tang J, Gu X, Wu J, Gao Q, Lv J, Mao C1, Xu Z. High-salt diets during pregnancy increases renal vascular reactivity due to altered soluble guanylyl cyclase-related pathways in rat offspring. *J Nutr Biochem.* 2016; 28: 121-8.
  14. Koleganova N, Piecha G, Ritz E, Becker LE, Müller A, Weckbach M, Nyengaard JR, Schirmacher P, Gross-Weissmann ML. Both high and low maternal salt intake in pregnancy alter kidney development in the offspring. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011; 301: F344-54.
  15. Di Nicolantonio R, Hoy K, Spargo S, Morgan TO. Perinatal salt intake alters blood pressure and salt balance in hypertensive rats. *Hypertension.* 1990; 15: 177-82.

## A Maternal High Salt Diet Enhances Salt Sensitivity of Offspring - Effects of Feeding Period and Dietary Sodium Level in Dams on Cardiovascular Function in Offspring -

Satomi Kagota<sup>1</sup>, Kana Maruyama<sup>1</sup>, Kazumasa Shinozuka<sup>1</sup>, Bruce N. Van Vliet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mukogawa Women's University, <sup>2</sup>Memorial University

### Summary

The fetal environment—the mother's condition and environment—has important effects on the offspring's cardiovascular system. Previously, we demonstrated that offspring of spontaneously hypertensive rats (SHR) fed a high-salt (4% NaCl) diet during gestation and lactation have lower blood pressure, impaired vasodilation in response to nitric oxide (NO), and left ventricular systolic and diastolic dysfunction, compared with offspring of SHR fed a control diet (grant No., 1231). However, it is unclear whether the sensitivity of the offspring cardiovascular system to a high maternal salt intake is greater during gestation or during lactation. Therefore, in this study, we investigated the influence on arterial and cardiac function of a maternal 6% NaCl diet during gestation only, compared to the effects of high salt intake during both gestation and lactation. Additionally, the degree of the dysfunction was compared to that produced by a maternal 4% NaCl diet during gestation and lactation, as shown in previous study.

SHR were exposed to either a maternal 6% NaCl diet or a control maternal diet (0.3% NaCl) during gestation and during the suckling period (HH and NN group), and a third group was exposed to a high-salt maternal diet only during gestation (HN group). After weaning at 4 weeks of age, male offspring were given a diet containing 0.3% NaCl for 8 weeks. Adult offspring in HN and HH group had lower blood pressure compared with that of NN group. Nitroprusside-induced vasodilation in aortas of HN and HH group was impaired. The extent of the dysfunction in HH group was the same as in HN group, and was greater than that observed in the group fed 4% NaCl diet during gestation and lactation. Left ventricular contractile and diastolic functions were reduced in HH group compared to NN group, and tended to decrease in HN group. The cardiac dysfunction observed in HH group was of a similar degree compared with that induced by the maternal 4% NaCl diet.

These results demonstrate that a maternal high-salt intake, especially during gestation, is a predisposing factor for disturbance of the cardiovascular system in offspring. This study suggests that the impairment of vasodilation depends on the level of salt in the maternal diet, and restriction of salt intake during lactation is effective to prevent a portion of cardiac dysfunction in offspring.