

沙库巴曲缬沙坦联合卡格列净 对缺血性心力衰竭大鼠心室重构的影响

刘娟* 韩慧媛

山西省心血管病医院心血管内科 山西太原 030001

摘要: 目的 探讨沙库巴曲缬沙坦 (ARNI) 联合卡格列净 (Canagliflozin) 对缺血性心力衰竭 (IHF) 大鼠心室重构的影响。方法 30 只 SD 大鼠行左冠状动脉前降支结扎术建立 IHF 模型, 筛选左室射血分数 (LVEF) <45% 的个体随机分成 5 组 (n=6): 空白组、模型组、ARNI 组 (68 mg/kg/d)、卡格列净组 (20 mg/kg/d)、联合治疗组。干预 4 周后, 通过超声心动图评估心功能, HE、Masson 染色观察大鼠心肌组织病理学改变, Western blot 检测 BNP、TGF- β 、 β -MHC 表达。结果 联合治疗组左室舒张末期内径 (LVEDD)、舒张末期容积 (LVEDV)、收缩末期容积 (LVESV) 较模型组显著降低 (均 $P < 0.05$) 及心肌纤维化改善明显, Western blot 提示, 与模型组相比, ARNI 组、卡格列净组和联合治疗组的 β -MHC、TGF- β 以及 BNP 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$)。进一步比较发现, 联合治疗组在降低 BNP、TGF- β 和 β -MHC 表达水平方面优于单独使用 ARNI 组和卡格列净组 ($P < 0.05$)。结论 ARNI 与卡格列净联用通过多靶点协同作用改善 IHF 大鼠心室重构, 其机制可能与抑制神经内分泌激活及纤维化信号通路相关。

关键词: 心力衰竭; 沙库巴曲缬沙坦; 卡格列净; 心肌纤维化; 心室重构

据 2023 年的中国心血管病年度报告, 目前我国患心血管病的人数已达 3.3 亿, 心力衰竭占 890 万例^[1], 寻找有效的治疗靶点正逐步成为治疗心力衰竭研究的重点和难点。沙库巴曲缬沙坦主要由缬沙坦 / 沙库巴曲按 1:1 的比例结合以钠盐复合物的形式存在^[2], 通过阻滞血管紧张素 II 受体和抑制脑啡肽酶 (neprilysin, NEP), 发挥舒张血管、逆转心室重构、促尿酸排泄等作用。钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 (SGLT-2) 抑制剂是治疗心力衰竭的主要药物之一, 作为一类新型降糖药, SGLT-2 抑制剂可通过抑制近曲肾小管葡萄糖的重吸收来降低血糖水平, 并使葡萄糖从尿液中排出 [3,4]。研究指出, SGLT-2 抑制剂不仅具有降压、改善心脑血管高风险的作用, 还能够减轻体重, 改善心功能^[5]。沙库巴曲缬沙坦与 SGLT2 抑制剂联用已成为心衰治疗新策略, 2023 年国家心力衰竭指南^[6]也提出沙库巴曲缬沙坦联合达格列净或恩格列净作为抗心衰治疗的一线治疗方案, 卡格列净属于 SGLT-2i, 但在心衰抗心室重构方面研究甚少, 曾有研究^[7]提示卡格列净具有心肌梗死后预防心衰的疗效, 但具体机制尚不清楚, 本研究旨在建立缺血性心衰大鼠模型, 并给予 ARNI、卡格列净及联合治疗, 观察其对缺血性心衰大鼠心肌纤维化及心功能损伤的研究。具体如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂

选 8 周龄雄性的 SD 大鼠 30 只 (均购自北京华阜康生物有限公司), 饲养温度: 20 ~ 26℃, 湿度: 40% ~ 70% 的 SPF 级环境中, 自由进食水。呼吸机: (厂家: 北京众实迪科技发展有限公司, 产品型号: DW-3000C)。心电图机: (厂家: 三锐。产品型号: ECG-2303B)。便携式数字化彩色超声诊断仪 LAB 版; (型号: VINNO 6 LAB。厂家: 飞依诺科技股份有限公司)。无水乙醇 /95% 乙醇 (32061, 西陇科学股份有限公司), 苏木素返蓝液 (G1040, Servicebio), 石蜡包埋机 (HistoCore Arcadia, Leica); 显微镜 (CX43, OLYMPUS)。中性树脂胶 (CW0136, CWBIO), Masson 三色染色液 (G1006, Servicebio) 等; WB 检测试剂盒购自北京普利莱基因技术有限公司。

2 研究方法

(1) 缺血性心力衰竭模型的建立: 大鼠适应性饲养一周后, 给予全身麻醉、固定在手术床上, 胸部备皮。将心电图的电极针连接在大鼠的右上肢和左下肢皮下, 记录 II 导联心电图。沿左侧第 4、5 肋间切开左侧胸部皮肤, 逐步暴露心脏, 结扎前降支, 观察心电图的变化并记录。心电图显

示 ST 段显著抬高时,提示急性心肌梗死模型建模成功。缝合伤口后,用青霉素(10 万 U/kg)预防伤口感染^[8]。手术 4 周以后所有大鼠进行 HE 染色和心脏超声检测(检测指标: LVEDD、LVEF、LVEDV、LVESV),将 LVEF < 45% 的大鼠作为合格的心衰模型。

(2) 分组干预:共分五组:1)空白对照组 2)模型组 3)模型组 +68mg/kg ARNI 组 4)模型组 +20mg/kg 卡格列净组 5)模型组 +68mg/kg ARNI+20mg/kg 卡格列净组。按上述分组灌胃给药 ARNI、卡格列净,其余组灌胃等量生理盐水,其中第五组先将两种药物混合再一起灌胃,每天灌胃一次,持续 4 周。

(3) 指标检测:给大鼠灌胃 4 周后检测如下指标:(1)取各组大鼠进行小动物超声(LVEDD、LVEF、LVEDV、LVESV);(2)取各组大鼠心脏进行 HE 和 Masson 染色以观察各组大鼠心肌细胞大小和左室纤维化的面积;(3)取各组大鼠心脏, WB 检测 BNP、TGF- β 、 β -MHC 表达水平。

3 统计学方法

用 Graphpad Prism9.0 的软件进行数据统计分析和图形绘制,定量结果采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组之间定量数值的比较采用独立样本 t 检验,多组之间定量数值的比较

采用单因素方差分析。检验水准 =0.05, P<0.05 为差异有统计学意义。

4 结果

HE 和心脏超声验证心衰模型并检测 SD 大鼠各组心脏

功能变化:

(1) 心衰模型验证 采用 HE 染色和小动物超声验证 HF 模型,如图 1 所示,HE 染色可见对照组心肌细胞排列规则,心肌纤维致密,无明显病变;模型组心肌结构紊乱,出现纤维化,细胞间距增大,心肌纤维出现断裂,并有少量出血现象,模型有明显病理改变。

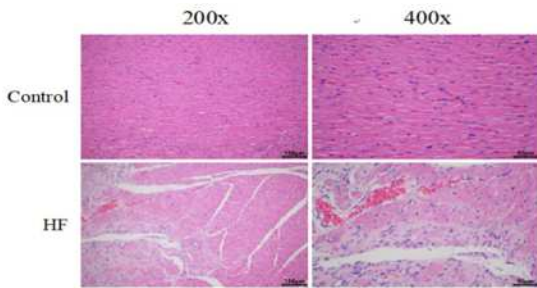


图 1. HF 模型验证: HE 染色

(2) 各组 SD 大鼠心衰模型经药物干预后超声变化 采用心脏超声检测各组大鼠心脏功能变化,结果如表 1 所示,与对照组相比,模型组中 LVEF 值显著降低(< 40%), LVEDD、LVEDV 和 LVESV 值显著升高,差异有统计学差异(P < 0.05),建模成功;给予 ARNI、ARNI+Canagliflozin 治疗后, LVEDD、LVEDV 和 LVESV 值显著下降,差异有统计学差异(P < 0.05); LVEF 值较模型组改善,但差异无统计学意义(P > 0.05);给予卡格列净组治疗后, LVEDD、LVEDV、LVESV 值下降, LVEF 值改善,但差异无统计学意义(P > 0.05)。

表 1 各组大鼠的超声心动图结果

组别	LVEDD(mm)	LVESV(μ L)	LVEDV(μ L)	LVEF(%)
对照组	9.97 \pm 0.49	109.60 \pm 36.92	343.10 \pm 46.30	0.68 \pm 0.08
HF 组	12.94 \pm 1.02*	643.30 \pm 143.50*	992.30 \pm 165.40*	0.35 \pm 0.04*
HF 组+ARNI	9.33 \pm 1.05#	250.40 \pm 92.39#	489.70 \pm 116.50#	0.50 \pm 0.08
HF 组+Canagliflozin	10.76 \pm 1.06	366.10 \pm 121.80	668.00 \pm 141.30#	0.46 \pm 0.07
HF 组+ARNI+Canagliflozin	10.14 \pm 0.73#	352.90 \pm 103.00#	584.80 \pm 91.90#	0.41 \pm 0.08

注:数据以均数 \pm 标准差表示, n=6/组; LVESV: 左室收缩末期容积(μ L), LVEDV: 左室舒张末期容积(μ L), LVEDD: 左室舒张末期径(mm), LVEF: 左室射血分数(%); *P<0.05 vs 空白对照组, #P<0.05 vs HF 组

(3) 病理染色检测心肌组织形态病理变化和左心室纤维化面积差异

采用 HE 染色心肌组织形态病理变化, Masson 染色观察比较左心室纤维化面积。如图 2 所示,对照组中心肌结构完整,细胞排列整齐,无炎性细胞浸润。模型组中心肌纤维断裂消失、溶解坏死,组织钙化,胶原纤维明显增生,有

大片心肌梗死区(黑色箭头),炎性细胞呈弥漫性浸润(红色箭头),心肌细胞间质血管增生(绿色箭头)。模型给予 ARNI 组心肌纤维化现象得到改善(黑色箭头),炎性细胞较模型组减少(红色箭头)。模型给予 Canagliflozin 组炎性细胞减少(红色箭头),相较于模型组心肌纤维化有明显改善。模型给予 ARNI+Canagliflozin 联合治疗组心肌细胞无明

显炎症细胞浸润, 心肌纤维化相较于模型组有明显改善。

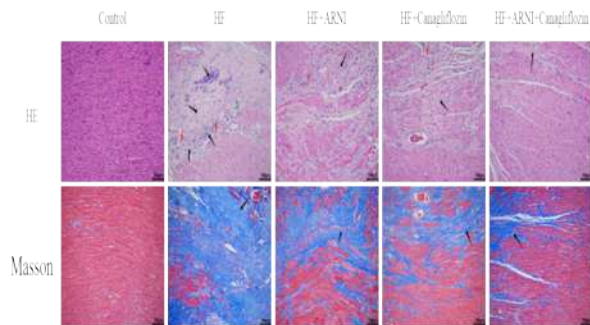


图 2. 心肌组织形态病理变化和左心室纤维化面积差异

(4) WB 法检测细胞炎症因子水平

采用 WB 法检测心肌组织中 BNP、TGF- β 、 β -MHC 蛋白表达水平差异, 如图 3 所示, 结果显示与对照组比较, 模型组 BNP、ARNI 组、Canagliflozin 组、ARNI+Canagliflozin 组 TGF- β 、 β -MHC 表达明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组相比 ARNI 组、Canagliflozin 组、ARNI+Canagliflozin 组 β -MHC、TGF- β 、BNP 表达均显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 ARNI 组、Canagliflozin 组相比, ARNI+Canagliflozin 组 BNP、TGF- β 、 β -MHC 表达均显著降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

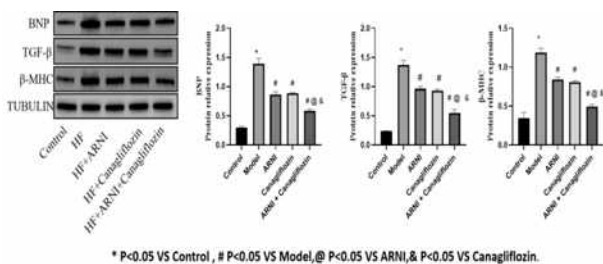


图 3. WB 检测心肌组织中 BNP、 β -MHC 和 TGF- β 蛋白表达情况

5 讨论

心力衰竭被称为心血管疾病最后的战场。ARNI 通过抑制脑啡肽酶 (NEP) 活性, 阻止利钠肽、缓激肽等心肌保护性因子的降解, 从而发挥强效的心肌保护作用 [9]。NEP 酶的抑制不仅增加了循环利钠肽水平, 还促进了血管扩张和心脏减负, 对于改善心室重构具有重要意义。卡格列净作为 SGLT2 抑制剂, 在降糖治疗中展现出显著的效果, 同时通过抑制肾小管对葡萄糖的重吸收, 延缓动脉粥样硬化的进展, 从而对心血管系统产生有益影响 [10]。

本研究通过动物实验证实, 沙库巴曲缬沙坦与卡格列净联用可通过多通路协同作用改善缺血性心力衰竭 (IHF)

心室重构, 其机制涉及神经内分泌抑制、代谢调控及纤维化信号干预, 为临床联合用药提供了理论依据。ARNI 通过直接抑制 RAAS 系统和脑啡肽酶, 迅速靶向纤维化通路 [11]; 而卡格列净则通过代谢途径 (如酮体利用和钠-氢交换抑制) 间接改善心脏重构, 起效时间相对较长。在 DAPA-HF 等大型临床试验中 [12] 也提示, SGLT2 抑制剂的心脏重构改善效应通常需要较长时间才能显现。这也是本研究卡格列净单药治疗效果不显著的可能原因。本研究发现, 联合治疗组血浆 BNP 水平较单药组进一步降低, 提示两药可能通过互补机制增强利钠肽系统的代偿效应。这与 PARADIGM-HF 研究中 ARNI 降低 BNP 的作用一致 [11]。而卡格列净的协同效应或与其改善容量负荷及心肌能量代谢相关 [13]。

本研究在动物实验模型的局限性方面也进行了深入探讨: 一方面, SD 大鼠心衰模型的构建难度较高, 造成样本量较小且观察周期较短, 可能影响实验结果的准确性; 另一方面, SD 大鼠模型难以完美模拟人类心力衰竭的病理过程, 增加了实验结果推广至临床的难度 [14]。

本研究具有重要的临床实践意义: 其一, 进一步验证了沙库巴曲缬沙坦作为心力衰竭基础治疗药物的优越性; 其二, 提示卡格列净可能更适合用于合并糖尿病或需要长期管理的心力衰竭患者; 其三, 联合治疗策略能够协同改善心功能和抗心肌炎症反应, 对抗心肌纤维化和心室重构。然而, 本研究仍有一些局限性, 未来需扩大样本量、优化实验设计以及引入更全面的监测指标 (如连续超声心动图和心肌组织病理学评估) 来进一步验证当前研究发现, 并探索联合治疗的最佳配比方案。

参考文献:

- [1] 刘明波等, 《中国心血管健康与疾病报告 2023》要点解读. 中国心血管杂志, 2024. 29(4): 第 305-324 页.
- [2] Bloch M J, Basile J N. Combination angiotensin receptor blocker-neutral endopeptidase inhibitor provides additive blood pressure reduction over angiotensin receptor blocker alone[J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2010, 12(10): 809-812.
- [3] 生乙辰, 王永刚, 张如意, 等. 钠-葡萄糖协同转运蛋白-2 抑制剂对心力衰竭的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39 (19): 4867-4870.
- [4] 姜莫荣, 项莹. SGLT-2 抑制剂的作用机制及其对血糖和肾脏等影响研究的进展 [J]. 心血管康复医学杂志,

2021,30 (3) : 353-357.

[5] 邹育梅, 孔冉冉, 向定成 .SGLT-2 抑制剂在心力衰竭治疗中的研究进展 [J]. 医学综述, 2022,28 (9) : 1784-1788.

[6] 国家心血管病中心, 国家心血管病专家委员会心力衰竭专业委员会, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 等 . 国家心力衰竭指南 2023 (精简版) [J]. 中华心力衰竭和心脏病杂志 . 2023, 07(3): 139-172.

[7] 李雪博, 范燕宾, 杜睿, 等 . 达格列净、恩格列净及卡格列净在心肌梗死后预防心力衰竭患者的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志 . 2023, 39(22): 3204-3208.

[8] 邢永发, 姬艳苏, 张玲, 等 . 丹参总酚酸对慢性心衰大鼠肌浆网 Ca^{2+} -ATP 酶, 受磷蛋白表达的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2011,38(1):3.

[9] Senni M, McMurray JJV, Wachter R, et al. Initiating sacubitril/valsartan (LCZ696) in heart failure: results of TITRATION, a double-blind, randomized comparison of two uptitration regimens [J] . European J Heart Fail, 2016, 18 (9) : 1193-1202.

[10] 褚文欣, 王丽宏 . 卡格列净的疗效和安全性的研究

进展 [J]. 中国医师进修杂志 . 2021, 44(10): 956-960.

[11] McMurray JJV, Packer M, Desai AS, et al. Angiotensin - Neprilysin Inhibition versus Enalapril in Heart Failure. N Engl J Med. 2014;371(11):993-1004.

[12] McMurray JJV, et al. (2019). DAPA-HF Trial Committees and Investigators. Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction. N Engl J Med. 381(21):1995-2008.

[13] Harris D D, Sabe S A, Xu C M, et al. Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitor canagliflozin modulates myocardial metabolism and inflammation in a swine model for chronic myocardial ischemia[J]. Surgery. 2024, 175(2): 265-270.

[14] Houser SR, et al. (2012). Animal models of heart failure: a scientific statement from the American Heart Association. Circ Res. 111(1):131-150.

作者简介: 刘娟 (1983—), 女, 汉族, 山西省太原市人, 硕士研究生, 山西省心血管病医院, 副主任医师, 心力衰竭。

基金项目: 山西省心血管病医院科研激励计划项目 (项目编号: XYS20200105)