

· 论 著 ·

## 沙库巴曲缬沙坦对自发性高血压大鼠心肌钠钙交换体的影响\*

马志兰<sup>1</sup>, 刘文杰<sup>2</sup>, 杨震<sup>3△</sup>, 于欣<sup>4</sup>, 王莉莉<sup>1</sup>, 张凤萍<sup>1</sup>, 马金艳<sup>1</sup>

(1. 宁夏医科大学总医院心脑血管病医院心电图室, 宁夏银川 750004; 2. 银川市中医医院, 宁夏银川 750004; 3. 宁夏医科大学总医院心脏中心, 宁夏银川 750004; 4. 宁夏医科大学临床学院检验系, 宁夏银川 750004)

【摘要】目的 探讨沙库巴曲缬沙坦对自发性高血压大鼠(SHR)心肌钠钙交换体(NCX)的影响。

方法 将 16 只雄性 SPF 级 SHR 随机分为对照组与观察组, 每组 8 只, 另将 8 只 SPF 级雄性 Wistar 健康大鼠作为正常组。观察组给予沙库巴曲缬沙坦治疗, 对照组、正常组均给予等容积生理盐水。比较各组大鼠左心室短轴收缩率(LVFS)、收缩末期室间隔厚度(IVSs)、心脏重量指数、心肌 NCX 蛋白表达水平, 以及病理学染色情况。结果 干预前, 对照组、观察组大鼠 IVSs 高于正常组, 而 LVFS 低于正常组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。干预前, 对照组与观察组大鼠 IVSs、LVFS 比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。干预后, 3 组大鼠 IVSs、LVFS 两两比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组大鼠干预后 IVSs 低于干预前, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。对照组大鼠心脏重量指数 $[(4.25 \pm 0.35) \text{mg/g}]$ 明显高于正常组心脏重量指数 $[(3.32 \pm 0.25) \text{mg/g}]$ , 而观察组大鼠心脏重量指数 $[(3.66 \pm 0.25) \text{mg/g}]$ 明显低于对照组心脏重量指数, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。对照组大鼠蓝色区域明显增多, 胶原纤维沉积为 $(12.42 \pm 0.66)\%$ , 显著高于正常组的 $(3.28 \pm 0.26)\%$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组大鼠蓝色区域显著减少, 胶原纤维沉积为 $(5.17 \pm 0.58)\%$ , 显著小于对照组的 $(12.42 \pm 0.66)\%$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。对照组、观察组、正常组大鼠心肌 NCX 蛋白相对表达水平分别为 $(0.96 \pm 0.14)$ 、 $(0.77 \pm 0.16)$ 、 $(0.56 \pm 0.13)$ , 3 组两两比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 沙库巴曲缬沙坦可抑制 SHR 心室重构, 降低胶原纤维沉积, 其作用机制可能与其下调 NCX 有关。

【关键词】自发性高血压; 沙库巴曲缬沙坦; 钠钙交换体; 心室重构; 大鼠

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2025.02.001

中图法分类号: R544.1

文章编号: 1009-5519(2025)02-0289-04

文献标识码: A

## Effect of sacubitril valsartan on myocardial sodium-calcium exchanger in spontaneously hypertensive rats\*

MA Zhilan<sup>1</sup>, LIU Wenjie<sup>2</sup>, YANG Zhen<sup>3△</sup>, YU Xin<sup>4</sup>, WANG Lili<sup>1</sup>, ZHANG Fengping<sup>1</sup>, MA Jinyan<sup>1</sup>

(1. Electrocadiography Room, Cardiovascular and Cerebrovascula Hospital of General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 2. Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 3. Heart Center, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 4. Department of Laboratory Medicine, Clinical College of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

【Abstract】Objective To investigate the effect of sacubitril valsartan on myocardial sodium-calcium exchanger(NCX) in spontaneously hypertensive rats (SHR). Methods A total of 16 male specific pathogen free (SPF) SHR were randomly divided into the control group and the observation group, with 8 in each group and 8 healthy male SPF Wistar rats were selected as the normal group. The observation group was treated with sacubitril valsartan, and the control group and normal group were treated with equal volume of normal saline. The left ventricular short axis systolic rate (LVFS), end systolic interventricular septal thickness (IVSs), heart weight index, myocardial NCX protein expression level and pathological staining were compared among all groups. Results Before intervention, the IVSs in the control group and the observation group was higher than that in the normal group, while the LVFS was lower than that in the normal group, the differences

\* 基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金项目(2023AAC03692)。

作者简介: 马志兰(1990—), 硕士研究生, 主治医师, 主要从事心电图学及高血压病研究。△ 通信作者, E-mail: yangzhen080@163.com。

网络首发 https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20250103.0838.010(2025-01-03)

were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Before intervention, there were no significant differences in IVSs and LVFS between the control group and the observation group ( $P > 0.05$ ). After the intervention, the IVSs and LVFS in the three groups were compared, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The IVSs in the observation group after intervention was lower than that before intervention, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The heart weight index of the control group [ $(4.25 \pm 0.35) \text{mg/g}$ ] was significantly higher than that of the normal group [ $(3.32 \pm 0.25) \text{mg/g}$ ], while the observation group [ $(3.66 \pm 0.25) \text{mg/g}$ ] was significantly lower than that of the control group, with statistical significance ( $P < 0.05$ ). The blue area in the control group was significantly increased, and the collagen fiber deposition was  $(12.42 \pm 0.66)\%$ , which was significantly higher than  $(3.28 \pm 0.26)\%$  in the normal group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The blue area in the observation group was significantly reduced, and the collagen fiber deposition was  $(5.17 \pm 0.58)\%$ , which was significantly less than  $(12.42 \pm 0.66)\%$  in the control group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The relative expression levels of myocardial NCX protein in the control group, the observation group and the normal group were  $(0.96 \pm 0.14)$ ,  $(0.77 \pm 0.16)$ ,  $(0.56 \pm 0.13)$ , respectively, and the differences were statistically significant between the three groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Sacubitril valsartan can inhibit ventricular remodeling and reduce collagen fiber deposition in SHR, and its mechanism may be related to the down-regulation of NCX.

**[Key words]** Spontaneous hypertension; Sacubitril valsartan; Sodium-calcium exchanger; Ventricular remodeling; Rats

高血压引起的左心室肥厚是心血管疾病中一个独立的危险因素,会导致心肌组织缺氧和缺血,最终导致心力衰竭。此外,电生理紊乱也可能引起各种恶性心律失常,进一步增加不良事件发生率<sup>[1]</sup>。沙库巴曲缬沙坦是由血管紧张素 II 受体拮抗剂缬沙坦和脑啡肽酶抑制剂沙库巴曲复合而成的一种抗心力衰竭药物,可显著降低心力衰竭患者住院率<sup>[2]</sup>。有临床研究显示,沙库巴曲缬沙坦既可以控制血压又可以预防高血压导致的靶器官(心脏、血管、肾脏等)损害,因此沙库巴曲缬沙坦有望成为高血压左心室肥厚患者获益最大的药物<sup>[3-4]</sup>。然而,沙库巴曲缬沙坦抑制心肌重塑的作用机制尚不清楚。本研究探讨了沙库巴曲缬沙坦对自发性高血压大鼠(SHR)心肌钠钙交换体(NCX)的影响,进一步了解沙库巴曲缬沙坦抑制心室重构的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 24 只大鼠均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物使用许可证号为 SYXK(宁)2020-0001,其中 16 只为 SFP 级雄性自发性高血压大鼠(SHR),8 只为 SFP 级雄性 Wistar 健康大鼠。将 SFP 级雄性 SHR 分为对照组(8 只)与观察组(8 只),将 SFP 级雄性 Wistar 健康大鼠作为正常组。本研究获得医院医学伦理委员会批准(KYLL-2022-0831)。

**1.1.2 药品与试剂** 沙库巴曲缬沙坦钠片(规格:100 毫克/片)购自北京诺华制药有限公司,NCX(100  $\mu\text{L}$ )购自美国 ABCM 公司,BCA 蛋白定量试剂盒、全蛋白提取试剂盒、配胶试剂盒及电化学发光检

测试剂盒均购自江苏凯基生物技术有限公司。

**1.2 方法** 观察组大鼠给予沙库巴曲缬沙坦钠片治疗,剂量为  $65 \text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ,对照组、正常组大鼠均给予等容积生理盐水,每天灌胃给药 1 次,灌胃 4 周。大鼠饲养环境:饲料喂养,室内温度  $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,自由饮水。大鼠末次给药后,异氟烷吸入麻醉,取仰卧位固定,用二维超声检测大鼠左心室短轴收缩率(LVFS)、收缩末期室间隔厚度(IVSs)。用异氟烷麻醉后立即称量大鼠体重(BW),仰卧位固定大鼠四肢,迅速打开大鼠胸腔将心脏暴露在可见范围内,剪开心脏右心耳,用  $4^\circ\text{C}$  生理盐水冲洗心脏中残留的液体,取出心脏。然后,用滤纸吸除心脏表面的液体后精密称量全心重量(HW),计算心脏重量指数(HW/BW),将其作为判断心肌肥厚的指标。

使用滤纸吸去大鼠心脏表面液体后,将心脏置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,固定 24 h 后进行石蜡包埋、脱蜡,最终切片(厚度  $6 \mu\text{m}$ )。Mosson 染色步骤包括:进行 Weigert 铁苏木精染色(5 min),然后稍微冲洗流水;使用 1% 盐酸乙醇进行分化,冲洗 3 min 后采用红酸性品红染液染色 10 min,然后略微冲洗流水;紧接着处理磷酸铝溶液约 1 min,随后使用苯胺蓝染液对比染色 6 min;采用 1% 冰醋酸处理 1 min,使用 95% 乙醇进行脱水数次;使用无水乙醇进行脱水,随后用二甲苯进行透明处理,最后使用中性树胶进行封固。

取冷冻冰箱中保存的 SHR 心肌组织,加入 RIPA 裂解缓冲液提取总蛋白,并用 BCA 法检测蛋白水平。将蛋白煮沸变性后,取  $40 \mu\text{g}$  蛋白样品用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,用 240 mA 电流

将蛋白转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,常温下用 5%脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 2 h。加入兔抗大鼠一抗稀释液(1:1 000),4 ℃过夜孵育,次日用磷酸盐缓冲液清洗 3 次。加入二抗稀释液(1:5 000)孵育 2 h,发光显影后,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,用 Image-J 软件测定各条带的灰度值,进行半定量分析。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析,组间比较采用 LSD-*t* 检验,组内比较采用配对 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 3 组大鼠 LVFS、IVSs 比较** 干预前,对照组、观察组大鼠 IVSs 高于正常组,而 LVFS 低于正常组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。干预前,对照组与观察组大鼠 IVSs、LVFS 比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。干预后,3 组大鼠 IVSs、LVFS 两两比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。观察组大鼠干预后

IVSs 低于干预前,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。对照组、正常组大鼠干预后 IVSs 高于干预前,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。观察组大鼠干预后 LVFS 高于干预前,对照组、正常组大鼠 LVFS 低于干预前,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 1。

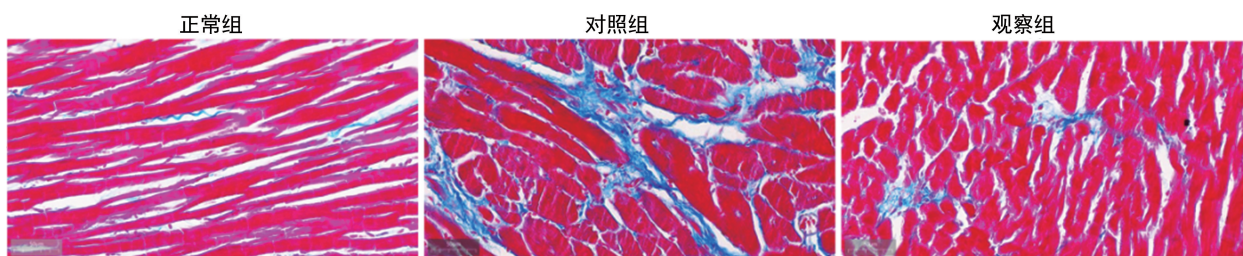
**2.2 3 组大鼠心脏重量指数比较** 对照组大鼠心脏重量指数[(4.25 ± 0.35)mg/g]明显高于正常组心脏重量指数[(3.32 ± 0.25)mg/g],而观察组大鼠心脏重量指数[(3.66 ± 0.25)mg/g]明显低于对照组心脏重量指数,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

**2.3 3 组大鼠病理学染色染色情况** 对照组大鼠蓝色区域明显增多,胶原纤维沉积为(12.42 ± 0.66)%,显著高于正常组的(3.28 ± 0.26)%,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。观察组大鼠蓝色区域显著减少,胶原纤维沉积为(5.17 ± 0.58)%,显著小于对照组的(12.42 ± 0.66)%,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见图 1。

表 1 3 组大鼠 LVFS、IVSs 比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IVSs(mm)		LVFS(%)	
		干预前	干预后	干预前	干预后
正常组	8	1.94 ± 0.12	1.97 ± 0.15	39.52 ± 3.18	39.15 ± 2.55
对照组	8	3.18 ± 0.16 <sup>a</sup>	3.29 ± 0.16 <sup>a</sup>	30.26 ± 3.22 <sup>a</sup>	27.76 ± 2.32 <sup>a</sup>
观察组	8	3.19 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.74 ± 0.19 <sup>abc</sup>	30.03 ± 3.28 <sup>a</sup>	32.98 ± 3.06 <sup>ab</sup>
F	—	152.60	91.98	16.90	26.01
P	—	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:—表示无此项;与正常组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与对照组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.05;与同组干预前比较,<sup>c</sup>*P* < 0.05。



注:心肌组织胶原沉积为红染,沉积胶原纤维为蓝染。

图 1 3 组大鼠心肌组织 Masson 染色情况(400×)

**2.4 3 组大鼠心肌 NCX 蛋白相对表达水平比较** 对照组、观察组、正常组大鼠心肌 NCX 蛋白相对表达水平分别为(0.96 ± 0.14)、(0.77 ± 0.16)、(0.56 ± 0.13),3 组两两比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见图 2。

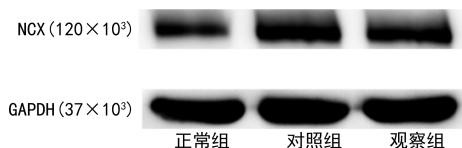


图 2 3 组大鼠心肌 NCX 蛋白表达情况

**3 讨论**

左心室肥厚(LVH)是由高血压引起的靶器官受损的一个典型表现,其是由于心脏质量增加、胶原纤维增生和心脏体积增大所致。长期高血压会导致 LVH,并最终导致心室重构<sup>[5]</sup>。LVH 是各种心脏疾病的重要预测因子,而减轻 LVH 与改善心脏疾病预后密切相关<sup>[6-7]</sup>。SHR 的病理生理变化与人类原发性高血压病的发展过程类似。有研究表明,SHR 大约在 2 个月大时开始出现自发性高血压,而在 3 个月大时逐渐出现 LVH 症状<sup>[8]</sup>。沙库巴曲缬沙坦具有双重

作用:(1)可以阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统,从而改善心室重塑;(2)可以抑制脑啡肽酶的降解,增强利钠肽系统的作用。因此,沙库巴曲缬沙坦在降低血压、抗心肌纤维化及减轻心肌肥厚方面发挥着重要作用<sup>[9-11]</sup>。本研究对 SHR 通过灌胃给予沙库巴曲缬沙坦干预后发现,SHR 心脏重量指数、IVSs 降低,LVFS 增加,且病理染色结果显示心肌组织间胶原纤维沉积明显得到改善,提示沙库巴曲缬沙坦具有保护心肌的作用,但是其保护心肌的机制尚不清楚。

NCX 是存在于心肌细胞膜上的一种双向转运体,其在超压力负荷下可将钙离子由心肌细胞外转运至心肌细胞内,导致心肌细胞内钙离子水平升高。高水平钙离子会促进心肌细胞凋亡,说明 NCX 在心肌细胞内的功能异常可能导致心力衰竭的发展<sup>[12-13]</sup>。既往在心力衰竭动物模型中的研究显示,神经调节蛋白可以抑制 NCX1 的增加<sup>[14]</sup>。SEA0400 和 ORM-11035 被证实是有效的 NCX 慢性抑制剂,其可以帮助维持心肌细胞内钙离子的稳定状态,并通过改善心脏的舒张功能抑制心室重构。这些药物的应用有助于提高心脏的整体功能,并预防心室重构。因此,该方式可能成为治疗心脏疾病的一种有效策略<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示,采用沙库巴曲缬沙坦干预后,SHR 心肌 NCX 蛋白相对表达水平明显降低,提示沙库巴曲缬沙坦可能通过下调 NCX,以维持细胞内钙离子稳态,从而通过抑制心室重构来保护心脏。

综上所述,沙库巴曲缬沙坦可抑制 SHR 心室重构,降低胶原纤维沉积,其作用机制可能与其下调 NCX 有关。

## 参考文献

- [1] 张婷婷,葛慧娟,庄晓赛,等.沙库巴曲缬沙坦对高血压左心室肥厚的临床疗效研究[J].中华全科医学,2022,21(7):1138-1142.
- [2] JIA G H, WHALEY-CONNELL A, SOWERS J R. Diabetic cardiomyopathy: A hyperglycaemia-and insulin-resistance-induced heart disease[J]. Diabetologia, 2018, 61(1):21-28.
- [3] DESAI A S, SOLOMON S D, SHAH A M, et al. Effect of sacubitril-valsartan vs. enalapril on aortic stiffness in patients with heart failure and reduced ejection fraction: A randomized clinical trial[J]. JAMA, 2019, 322(11):1077-1084.
- [4] MC CAUSLAND F R, LEFKOWITZ M P, CLAGGETT B, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition and renal outcomes in heart failure with preserved ejection fraction[J]. Circulation, 2020, 142(13):1236-1245.
- [5] YILDIZ M, OKTAY A A, STEWART M H, et al. Left ventricular hypertrophy and hypertension[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2020, 63(1):10-21.
- [6] CUSPIDI C, FACCHETTI R, BOMBELLI M, et al. High normal blood pressure and left ventricular hypertrophy echocardiographic findings from the pamela population[J]. Hypertension, 2019, 73(3):612-619.
- [7] 王晶,李孟婷,邓江,等.人参皂苷 Re 通过 TRPC 介导的钙信号通路改善自发性高血压大鼠左心室肥厚[J].遵义医科大学学报,2023,46(6):537-545.
- [8] TELES M C, OLIVEIRA PORTES A M, CAMPOS COELHO B I, et al. Cardiac changes in spontaneously hypertensive rats: Modulation by aerobic exercise[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2023, 177:109-124.
- [9] 朱林,洪梅.沙库巴曲缬沙坦在心血管疾病治疗中的研究进展[J].中华老年多器官疾病杂志,2020,19(5):384-387.
- [10] VARDENY O, CLAGGETT B, KACHADOURIAN J, et al. Incidence, predictors, and outcomes associated with hypotensive episodes among heart failure patients receiving sacubitril/valsartan or enalapril: The PARADIGM-HF trial (prospective comparison of angiotensin receptor neprilysin inhibitor with angiotensin-converting enzyme inhibitor to determine impact on global mortality and morbidity in heart failure) [J]. Circ Heart Fail, 2018, 11(4):e004745.
- [11] 马志兰,于欣,刘文杰,等.沙库巴曲缬沙坦对自发性高血压大鼠心肌钙调神经磷酸酶/活化 T 细胞核因子 3 信号通路的影响[J].中国医药,2022,17(12):1782-1786.
- [12] LU Z, CUI Y, WEI X, et al. Deficiency of PKD2L1 (TRPP3) exacerbates pathological cardiac hypertrophy by augmenting ncx1-mediated mitochondrial calcium overload [J]. Cell Rep, 2018, 24(6):1639-1652.
- [13] 李焱,姜泽丰,乔冬卉,等.附子-黄芪-葶苈子角药对心力衰竭模型大鼠心肌细胞线粒体膜电位及钙调节蛋白 NCX1、SERCA2 的影响[J].中医杂志,2020,62(3):252-258.
- [14] WANG X, ZHUO X, GAO J, et al. Neuregulin-1 $\beta$  partially improves cardiac function in volume-overload heart failure through regulation of abnormal calcium handling[J]. Front Pharmacol, 2019, 10:616.
- [15] PRIMESSNIG U, BRACIC T, LEVIJOKI J, et al. Long-term effects of Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger inhibition with ORM-11035 improves cardiac function and remodelling without lowering blood pressure in a model of heart failure with preserved ejection fraction[J]. Eur J Heart Fail, 2019, 21:1543-1552.
- [16] 刘峰宇,韩薇.心肌细胞钙稳态失调在心力衰竭中作用的研究进展[J].基础医学与临床,2020,42(3):502-506.

(收稿日期:2024-05-26 修回日期:2024-09-28)