

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.08.006

达格列净对高血压小鼠小动脉重构的影响及机制*

巩亮¹ 王晓春² 焦阳³ 姜顺涛¹ 杨光磊¹

(1 贵州省遵义医科大学附属医院心内科 贵州 遵义 563000; 2 贵州省遵义医科大学附属医院综合病房 贵州 遵义 563000;
3 贵州省遵义医科大学第三附属医院心内科 贵州 遵义 563000)

摘要 目的: 探究钠葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂 (达格列净) 对高血压小鼠小动脉重构的影响及机制。**方法:** 30 只 12 周龄的 C57BL/6 雄性小鼠纳入本研究, 根据实验目的将实验小鼠分为对照组、模型组和达格列净组。检测并比较各组小鼠心脏肥大、心脏纤维化、动脉重塑、炎症因子 mRNA 表达、PI3K 和 Akt 蛋白质表达以及细胞活力和细胞迁移。**结果:** 与对照组相比, 模型组收缩压和心脏/体重增加 ($P<0.05$)。与模型组相比, 达格列净组收缩压和心脏/体重降低 ($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组 RV/(LV+S) 和得分增加 ($P<0.05$)。与模型组相比, 达格列净组 RV/(LV+S) 和得分降低 ($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组显示血管壁增厚, 透明质改变, 脑小动脉管腔狭窄或闭塞 ($P<0.05$)。与模型组相比, 达格列净组降低高血压引起的小动脉重塑 ($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 表达水平增加 ($P<0.05$)。与模型组相比, 达格列净组 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 表达水平降低 ($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组 PI3K 和 Akt 蛋白质表达水平增加 ($P<0.05$)。与模型组相比, 达格列净组 PI3K 和 Akt 蛋白质表达水平降低 ($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组 VEZF1, Angpt-1 和 IGF1 表达水平降低 ($P<0.05$)。与模型组相比, 达格列净组 VEZF1, Angpt-1 和 IGF1 表达水平增加 ($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组细胞活力和细胞迁移降低 ($P<0.05$)。与模型组相比, 达格列净组细胞活力和细胞迁移增加 ($P<0.05$)。**结论:** 达格列净通过抑制 PI3K / Akt 信号通路, 降低炎症反应, 增加血管生成能力, 降低高血压小鼠小动脉重构。

关键词: 达格列净; 高血压; 小动脉重构; PI3K / Akt; 信号通路

中图分类号: R-33; R544.1; R543.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2022)08-1429-05

The Effect and Mechanism of Dapagliflozin on Arteriole Remodeling in Hypertensive Mice*

GONG Liang¹, WANG Xiao-chun², JIAO Yang³, JIANG Shun-tao¹, YANG Guang-lei¹

(1 Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Guizhou Province, Zunyi, Guizhou, 563000, China;

2 General Ward, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Guizhou Province Zunyi, Guizhou, 563000, China;

3 Department of Cardiology, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Guizhou Province, Zunyi, Guizhou, 563000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect and mechanism of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor (dapagliflozin) on arteriole remodeling in hypertensive mice. **Methods:** Thirty 12-week-old C57BL/6 male mice were included in this study. According to the purpose of the experiment, the experimental mice were divided into control group, model group and dapagliflozin group. Cardiac hypertrophy, cardiac fibrosis, arterial remodeling, inflammatory factor mRNA expression, PI3K and Akt protein expression, cell viability and cell migration were detected and compared in each group of mice. **Results:** Compared with the control group, the systolic blood pressure and heart/weight increase in the model group ($P<0.05$). Compared with the model group, the systolic blood pressure and heart/body weight of the dapagliflozin group decreased ($P<0.05$). Compared with the control group, the model group's RV/ (LV+S) and score increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the RV/ (LV+S) and score of dapagliflozin group decreased ($P<0.05$). Compared with the control group, the model group showed thickening of the vessel wall, changes in hyaline, and stenosis or occlusion of cerebral arterioles ($P<0.05$). Compared with the model group, the dapagliflozin group reduced arterial remodeling caused by hypertension ($P<0.05$). Compared with the control group, the mRNA expression levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the model group increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the mRNA expression levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the dapagliflozin group were reduced ($P<0.05$). Compared with the control group, the protein expression levels of PI3K and Akt in the model group increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the protein expression levels of PI3K and Akt in the dapagliflozin group decreased ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression levels of VEZF1, Angpt-1 and IGF1 in the model group were reduced ($P<0.05$). Compared with the model group, the expression levels of VEZF1, Angpt-1 and IGF1 in the dapagliflozin group increased ($P<0.05$). Compared with the control group, the cell viability and cell migration of the model group were reduced ($P<0.05$). Compared with the model group, the cell viability and cell

* 基金项目: 贵州省科技厅基金项目(黔科合基础[2016]1173)

作者简介: 巩亮(1974-), 男, 硕士, 主任医师, 研究方向: 心内科, E-mail: g1417185871@163.com

(收稿日期: 2021-10-07 接受日期: 2021-10-31)

migration of the dapagliflozin group increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Dapagliflozin inhibits PI3K/Akt signaling pathway, reduces inflammation, increases angiogenesis, and reduces arteriolar remodeling in hypertensive mice.

Key words: Dapagliflozin; Hypertension; Arteriole remodeling; PI3K/Akt; Signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R544.1; R543.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)08-1429-05

前言

高血压是全球范围内重要的全球公共卫生负担, 据估计, 到 2025 年, 高血压的成年人总数将增加到 15.6 亿^[1,2]。动脉高血压是导致动脉粥样硬化的主要危险因素之一, 动脉粥样硬化最终导致诸如心肌梗塞或中风的血栓栓塞事件, 并因此成为导致全球死亡率和严重残疾的发病率的主要原因, 颅内小动脉重构是慢性血压升高的主要适应机制, 然而适应不良的重构导致管腔狭窄和灌注不足的后遗症^[3,4]。血管平滑肌细胞(Vascular smooth muscle cells, VSMC)是血管重构过程中的关键细胞, 成熟血管中的 VSMC 是高度可塑性的细胞, 可响应局部环境变化并改变其表型^[5,6]。钠葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂(Sodium glucose transporters 2 Inhibitor, SGLT2i)是一类新型的抗糖尿病药物, 可抑制肾脏对葡萄糖和钠的吸收^[7,8]。有新出现的糖尿病独立性证据表明, SGLT2i 可对非糖尿病性 HF 患者有益^[9,10]。最近的一项研究表明, 达格列净可降低人末期 HF 心室小梁的舒张肌张力, 并直接改善其舒张张力, 并且可通过抑制线粒体活性氧的产生来保持心脏微血管内皮细胞的功能, 并改善心衰^[11-13]。尽管 SGLT2i 具有明显的心血管益处, 但其潜在机制尚未完全明了。本研究旨在探究钠葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂(达格列净)对高血压小鼠小动脉重构的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验小鼠 30 只 12 周龄的 C57BL/6 雄性小鼠纳入本研究。将动物圈养在 12 小时的光照/黑暗周期下, 可自由享用标准饮食和水。

1.1.2 实验分组 实验分为 3 组: 对照组(C57BL/6 雄性小鼠), 模型组(通过渗透性微型泵输注 Ang II 诱发高血压, 每天 490 ng/kg, $n=10$)和达格列净组(高血压模型小鼠达格列净治疗, 每天 10 mg/kg, $n=10$)。

1.2 方法

1.2.1 评估右心室肥大和纤维化 将右心室固定在 10% 福尔马林缓冲液中, 石蜡包埋, 切成薄片(5 毫米), 用 Masson 三色染色, 并在明亮视野下用 Olympus BX50 显微镜观察, 并进行评分, 其中不存在胶原蛋白沉积的评分为 0, 而弥散性和强烈的胶原蛋白染色的评分为 10。使用平均评分用于统计分析。

1.2.2 实时定量逆转录酶 PCR 将小块的心房和心室组织放入液氮中进行速冻, 保存在 -80°C 的冰箱中直至进行分析。每组选择四只小鼠进行心脏 mRNA 表达分析。使用 TRI 试剂(美国 Sigma-Aldrich)制备总 RNA, 进行反转录(美国英杰公司)。使用 ABI 7500 实时系统和带有 TaqMan 探针的 TaqMan Universal Master Mix II 进行实时定量 RT-PCR。

1.2.3 蛋白质印迹分析 使用已经在含有蛋白酶抑制剂的均

化缓冲液中处理过的心脏组织进行了蛋白质印迹分析, BCA 蛋白质测定试剂盒测定蛋白质浓度, SDS-PAGE 分离蛋白质样品以及 SDS 上样缓冲液, 并将其转移到 PVDF 膜上。在室温下在含有 0.05% Tween-20 和 5% 脱脂奶粉的 TBS 中封闭 4 小时后, 使用二抗对 PVDF 膜进行免疫印迹。使用延长的底物试剂盒(美国 Thermo Scientific 公司)检测 PVDF 膜中的蛋白条带, 并通过 Labworks 4.6 进行定量。

1.2.4 免疫荧光 常规心脏组织石蜡切片, 将其在 PBS 中洗涤 3 次, 每次 10 min, 并与含有 5% 正常山羊血清的 PBS/0.2% Triton X-100 中的封闭溶液在室温下孵育 60 min。将组织与一抗在 PBS/0.2% Triton X-100/3% 正常山羊血清中的一抗一起在 4°C 下孵育过夜。第二天, 在 PBS/0.2% Triton X-100 中将组织洗涤 3 次, 每次 10 分钟, 并在室温下与 DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole)(DAPI)(4,6-diamidino-2-phenylindole)孵育 1 分钟, 在室温下孵育二抗。PBS/0.2% Triton X-100/1% 正常山羊血清在室温下放置 1 小时。将组织切片在 PBS/0.2% Triton X-100 中洗涤 3 次, 每次 10 分钟, 并用 ProLong 抗褪色剂(Molecular Probes, Eugene, OR, USA)覆盖在显微镜载玻片上。图像是使用 Leica 荧光显微镜(Leica TCS SP5)采集的。每个高倍视野的微血管数量通过测量阳性血管来量化, 该血管是在每个标本的 10 个不同视野中手动计算的。随机选择切片, 观察者不知情。

1.2.5 细胞培养 从 8-10 周龄的小鼠中分离出小动脉 VSMC, 从内侧层切出外膜和内膜并培养。当细胞生长至 70-80% 浓度时, 将外植体移出, 并将 VSMC 在含有 10% FBS 的高葡萄糖 DMEM 和含有 5% CO_2 和 95% 空气的细胞培养箱中于 37°C 的抗生素中培养。在随后的体外细胞实验中, 细胞培养基中达格列净的浓度为 $1\ \mu\text{M}$ 。

1.2.6 细胞增殖测定 将 VSMC 接种到 96 孔板(5×10^3 细胞/孔)中, 并在含有 10% FBS 的 DMEM 中培养。细胞粘附和饥饿后, 在细胞培养箱中向孔中添加不同的药物处理 24 小时。将 $10\ \mu\text{L}$ CCK-8 溶液添加至培养基, 并将细胞继续孵育 1 小时。使用微孔板读数器(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)测量 450 nm 处的吸光度。

1.2.7 细胞迁移测定 将含有 10% FBS 的 DMEM 添加到 Boyden 小室的下部, 将悬浮在无 FBS DMEM 中的 VSMC (5.0×10^4 细胞/mL)添加到 Boyden 小室的上部。在 37°C 下温育 4 小时后, 将滤膜的上层刮下并用 PBS 洗涤。过滤器底部的细胞用 4% 多聚甲醛固定, 并用 DAPI (4,6-二氨基-2-苯基吡啶)染色。最后, 对细胞拍照并从每孔五个高功率($\times 400$)场中计数。将平均值用作迁移细胞数。

1.3 统计分析

数据表示为平均值 $\pm$ SD。n 表示小鼠的数量。使用单向方差分析和 Tukey 的多重比较测试。统计学显著性即 P 值 $\leq$

0.05。使用 GraphPad Prism 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 达格列净降低模型小鼠收缩压

与对照组相比,模型组收缩压和心脏 / 体重增加($P<0.05$)。

与模型组相比,达格列净组收缩压和心脏 / 体重降低($P<0.05$)。

表 1 收缩压和心脏 / 体重比较

Table 1 Comparison of systolic blood pressure and heart/weight

Groups	n	Systolic pressure(mmHg)	Heart / Body Weight(mg/g)
Control group	10	103.42± 6.37	4.89± 0.26
Model group	10	128.53± 7.21	6.34± 0.32
Dag le Net Group	10	105.64± 6.89	5.06± 1.16
F	-	15.234	18.234
P	-	<0.001	<0.001

2.2 达格列净减少模型小鼠的 RV 肥大和纤维化

与模型组相比,达格列净组 RV/(LV+S)和得分降低($P<0.05$)。

与对照组相比,模型组 RV/(LV+S)和得分增加($P<0.05$)。(表 2)。

表 2 达格列净减少模型小鼠的 RV 肥大和纤维化

Table 2 RV hypertrophy and fibrosis in mice with daglitaxel reduction model

Groups	n	RV/(LV+S)	Score
Control group	10	0.25± 0.33	4.25± 0.36
Model group	10	0.52± 0.16	8.33± 0.62
Dag le Net Group	10	0.41± 0.13	5.38± 0.35
F	-	15.234	16.8564
P	-	<0.001	<0.001

2.3 达格列净降低模型小鼠的炎症反应

达水平增加($P<0.05$)。与模型组相比,达格列净组 IL-1 β , IL-6

与对照组相比,模型组 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 表 和 TNF- α 的 mRNA 表达水平降低($P<0.05$)。(表 3)。

表 3 炎症因子 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 表达

Table 3 mRNA expression of inflammatory factors IL-1 β , IL-6 and TNF- α

Groups	IL-1 β	IL-6	TNF- α
Control group	0.83± 0.24	0.76± 0.11	0.98± 0.17
Model group	3.37± 0.15	3.87± 0.25	4.22± 0.26
Dag le Net Group	1.22± 0.36	1.03± 0.15	1.38± 0.24
F	15.264	15.347	16.279
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 达格列净抑制 PI3K / Akt 途径

($P<0.05$)。与模型组相比,达格列净组 PI3K 和 Akt 蛋白质表达

与对照组相比,模型组 PI3K 和 Akt 蛋白质表达水平增加 水平降低($P<0.05$)。(表 4)。

表 4 达格列净抑制 PI3K / Akt 途径

Table 4 Dag le net suppression PI3K /Akt pathway

Groups	n	PI3K	Akt
Control group	10	0.23± 0.05	0.33± 0.06
Model group	10	0.98± 0.11	0.89± 0.12
Dag le Net Group	10	0.44± 0.13	0.45± 0.06
F	-	13.698	12.324
P	-	<0.001	<0.001

2.5 达格列净促进 VEZF1, Angpt-1 和 IGF1 表达 降低($P<0.05$)。与模型组相比,达格列净组 VEZF1, Angpt-1 和 IGF1 表达水平增加($P<0.05$)。(表 5)。

表 5 VEZF1, Angpt-1 和 IGF1 表达水平
Table 5 The VEZF1, Angpt-1 and IGF1 expression levels

Groups	VEZF1	Angpt-1	IGF1
Control group	4.36± 0.32	4.78± 0.35	3.65± 0.32
Model group	1.25± 0.23	1.08± 0.21	1.07± 0.13
Dag le Net Group	3.68± 0.15	3.92± 0.18	2.56± 0.18
F	15.234	15.234	15.324
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.6 达格列净增加细胞活力和细胞迁移 与模型组相比,达格列净组细胞活力和细胞迁移增加($P<0.05$)。与对照组相比,模型组细胞活力和细胞迁移降低($P<0.05$)。(表 6)。

表 6 细胞活力和细胞迁移
Table 6 Cell viability and cell migration

Group	Cell vitality	Cell migration
Control group	1.85± 0.13	101.03± 8.24
Model group	1.21± 0.12	42.25± 5.16
Dag le Net Group	1.64± 0.13	92.36± 6.18
F	15.874	17.487
P	<0.001	<0.001

3 讨论

高血压影响全世界约三分之一的成年人,约占中风和局部缺血性心脏病全球风险的一半^[14,15]。高血压引起的小动脉重构以及随后的动脉粥样硬化和小动脉硬化是造成心脑血管疾病的主要因素^[16]。高血压与血管系统的不良重构和威胁生命的心血管事件的发生率增加相关。重构过程中突出的是小动脉和大动脉总体硬化和向内重构^[17,18]。此外,证据表明血管重构和变硬先于高血压的发展,且驱动不良血管重构和变硬的主要刺激是血管收缩的延长^[19]。高血压的发病机制涉及多种途径,包括内皮功能障碍,肺平滑肌细胞异常增殖,细胞外基质重构增加和慢性炎症^[20]。在高血压中,循环血管收缩剂(血栓烷,内皮素,5-羟色胺)和血管扩张剂(前列环素,一氧化氮)的影响之间的不平衡会促进小动脉的血管收缩,进而引起 VSMC 增殖,从而促进管腔变窄^[21]。

达格列净是一种 SGLT2 抑制剂,可降低 2 型糖尿病和已确定的冠心病患者心衰和主要不良心血管事件的住院率^[22,23]。一项研究发现,与安慰剂相比,达格列净治疗 6 个月显著增加循环中促血管生成的 CD133+ 祖细胞,减少炎性粒细胞前体,并增加具有抗炎性 M2 极化的循环单核细胞^[24]。本研究显示,高血压小鼠小动脉显示出明显的向内重构,血管壁增厚,透明质改变,脑小动脉管腔狭窄或闭塞,说明达格列净治疗抑制小动脉重构。

相关研究显示:血管炎症是动脉性高血压形成过程中的关键组成部分,炎症细胞依次进入血管壁,导致高水平的血管氧化应激和 eNOS 解偶联,最终导致动脉粥样硬化^[25]。GLP- 在注入 ATII 的小鼠中,内皮细胞的活化阻止了这些作用并改善了

血管舒张和 NO 生物利用度^[26]。本研究显示,可在高血压小鼠中观察到活化的炎症状态,这由炎症因子包括 IL-1 β , IL-6 和 TNF α 的 mRNA 表达增加来证明,结合上述研究可知:达格列净可通过抑制高血压小鼠炎症反应从而缓解高血压病情进展。

关于达格列净抑制高血压小鼠小动脉重构的分子机制,我们特别关注 PI3K / Akt 途径的作用,PI3K / Akt 已被证明对 VSMC 的增殖和迁移至关重要^[27]。此外,PI3K/Akt 的促发炎作用与增强的核定位和 NF- κ B 的激活有关。在本研究中,发现高血压小鼠 PI3K 和 Akt 蛋白质表达水平增加,达格列净降低 PI3K 和 Akt 蛋白质表达水平,这些数据表明达格列净通过抑制 PI3K / Akt 信号传导途径抑制了高血压小鼠小动脉重构,与上述研究一致。另外,本研究还观察到达格列净抑制高血压小鼠小动脉重构与某些血管生成基因的刺激有关,与 Nagata D 等^[28]研究一致。VEZF1 是调节血管生成的重要转录因子,在本研究中,高血压小鼠 VEZF1, Angpt-1 和 IGF1 表达水平降低。达格列净治疗增加了 VEZF1, Angpt-1 和 IGF1 表达水平。说明达格列净恢复了小鼠的血管生成能力。

尽管复杂的过程和血管壁中的各种细胞参与了高血压的动脉重构,但收缩型 VSMC 的表型调节已被广泛接受为关键过程^[29]。成熟血管内的 VSMC 在调节血管收缩和扩张中起主要作用,与终末分化的骨骼肌细胞或心肌细胞不同,VSMC 保留了显著的可塑性,并且可以响应局部环境变化(如动脉损伤和高血压)经历从收缩表型到合成表型的表型调节^[30]。不适当或过度的 VSMC 表型调节会促进血管重构,包括介质肥大,新内膜增生和细胞外基质沉积,因此,VSMC 表型调节的减弱或抑制可能显示出对高血压中颅内小动脉重构的保护作用。在本研究中,高血压 VSMC 在体外也显示出增加的增殖和迁移能力。

综上所述,我们提供的证据表明,达格列净通过抑制 PI3K / Akt 信号通路,降低炎症反应,增加血管生成能力,降低高血压小鼠小动脉重构。这些发现凸显了达格列净在预防和治疗高血压方面的前景。

参考文献(References)

- [1] Linden K, McQuillan C, Brennan P, et al. Advances in Clinical Cardiology 2018: A Summary of Key Clinical Trials [J]. *Adv Ther*, 2019, 36: 1549-1573
- [2] 王宗玉,王琳,杨芾,等. 肠道菌群参与高血压形成机制的研究进展[J]. *心肺血管病杂志*, 2020, 39(04): 133-136
- [3] Linden K, Mailey J, Kearney A, et al. Advances in Clinical Cardiology 2019: A Summary of Key Clinical Trials [J]. *Adv Ther*, 2020, 37: 2620-2645
- [4] Wilcox CS. Antihypertensive and Renal Mechanisms of SGLT2 (Sodium-Glucose Linked Transporter 2) Inhibitors[J]. *Hypertension*, 2020, 75: 894-901
- [5] Loutradis C, Papadopoulou E, Angeloudi E, et al. The Beneficial Hemodynamic Actions of SGLT-2 Inhibitors beyond the Management of Hyperglycemia[J]. *Curr Med Chem*, 2020, 27: 6682-6702
- [6] Sarafidis P, Papadopoulos CE, Kamperidis V, et al. Cardiovascular Protection With Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors and Mineralocorticoid Receptor Antagonists in Chronic Kidney Disease: A Milestone Achieved[J]. *Hypertension*, 2021, 77: 1442-1455
- [7] Gong L, Wang X, Pan J, et al. The co-treatment of rosuvastatin with dapagliflozin synergistically inhibited apoptosis via activating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in myocardial ischemia/reperfusion injury rats[J]. *Open Med (Wars)*, 2021, 15: 47-57
- [8] 张波,杨文英. 钠-葡萄糖共转运蛋白 2 抑制剂(SGLT2i)在治疗 2 型糖尿病中的有效性和安全性 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2016, (2): 171-176
- [9] Norhammar A, Bodegård J, Nyström T, et al. Dapagliflozin and cardiovascular mortality and disease outcomes in a population with type 2 diabetes similar to that of the DECLARE-TIMI 58 trial: A nationwide observational study [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2019, 21: 1136-1145
- [10] Wheeler DC, Stefansson BV, Batiushin M, et al. The dapagliflozin and prevention of adverse outcomes in chronic kidney disease (DAPA-CKD) trial: baseline characteristics [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2020, 35: 1700-1711
- [11] Papadopoulou E, Theodorakopoulou MP, Loutradis C, et al. Dapagliflozin Does Not Affect Short-Term Blood Pressure Variability in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus[J]. *Am J Hypertens*, 2021, 34: 404-413
- [12] Maltês S, Cunha GJL, Rocha BML, et al. Dapagliflozin in a Real-World Chronic Heart Failure Population: How Many Are Actually Eligible[J]. *Cardiology*, 2021, 146: 201-206
- [13] Kayano H, Koba S, Hirano T, et al. Dapagliflozin Influences Ventricular Hemodynamics and Exercise-Induced Pulmonary Hypertension in Type 2 Diabetes Patients-A Randomized Controlled Trial [J]. *Circ J*, 2020, 84: 1807-1817
- [14] Zelniker TA, Bonaca MP, Furtado RHM, et al. Effect of Dapagliflozin on Atrial Fibrillation in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: Insights From the DECLARE-TIMI 58 Trial[J]. *Circulation*, 2020, 141: 1227-1234
- [15] 李宏建. 高血压持续时间和血压水平对心房颤动患者缺血性卒中风险的影响[J]. *国际脑血管病杂志*, 2019, 27(4): 245
- [16] van Bommel EJM, Smits MM, Ruiter D, et al. Effects of dapagliflozin and gliclazide on the cardiorenal axis in people with type 2 diabetes[J]. *J Hypertens*, 2020, 38: 1811-1819
- [17] Díaz-Cruz C, González-Ortiz M, Rosales-Rivera LY, et al. Effects of dapagliflozin on blood pressure variability in patients with prediabetes and prehypertension without pharmacological treatment: a randomized trial[J]. *Blood Press Monit*, 2020, 25: 346-350
- [18] 李敬淑. 探讨高血压严重程度对心房颤动患者主要心血管事件的影响[J]. *中国卫生标准管理*, 2015, (10): 109-110
- [19] Wheeler DC, Stefansson BV, Jongs N, et al. Effects of dapagliflozin on major adverse kidney and cardiovascular events in patients with diabetic and non-diabetic chronic kidney disease: a prespecified analysis from the DAPA-CKD trial[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9: 22-31
- [20] Kosiborod M, Berwanger O, Koch GG, et al. Effects of dapagliflozin on prevention of major clinical events and recovery in patients with respiratory failure because of COVID-19: Design and rationale for the DARE-19 study[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2021, 23: 886-896
- [21] Isshiki M, Sakuma I, Hayashino Y, et al. Effects of dapagliflozin on renin-angiotensin-aldosterone system under renin-angiotensin system inhibitor administration[J]. *Endocr J*, 2020, 67: 1127-1138
- [22] Solini A, Seghieri M, Giannini L, et al. The Effects of Dapagliflozin on Systemic and Renal Vascular Function Display an Epigenetic Signature[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104: 4253-4263
- [23] 包丽雯,刘荣宸,严芳英,等. 钠-葡萄糖共转运体 2 抑制剂治疗心血管疾病的研究进展[J]. *中华心血管病杂志*, 2020, 48(4): 339-343
- [24] Yamakage H, Tanaka M, Inoue T, et al. Effects of dapagliflozin on the serum levels of fibroblast growth factor 21 and myokines and muscle mass in Japanese patients with type 2 diabetes: A randomized, controlled trial[J]. *J Diabetes Investig*, 2020, 11: 653-661
- [25] Frias JP, Gonzalez-Galvez G, Johnsson E, et al. Efficacy and safety of dual add-on therapy with dapagliflozin plus saxagliptin versus glimepiride in patients with poorly controlled type 2 diabetes on a stable dose of metformin: Results from a 52-week, randomized, active-controlled trial[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2020, 22: 1083-1093
- [26] Asrih M, Gariani K. Impact of SGLT Inhibitors on Multiple Organ Defects in Diabetes[J]. *Curr Diabetes Rev*, 2020, 16: 411-418
- [27] van Bommel EJM, Ruiter D, Muskiet MHA, et al. Insulin Sensitivity and Renal Hemodynamic Function in Metformin-Treated Adults With Type 2 Diabetes and Preserved Renal Function [J]. *Diabetes Care*, 2020, 43: 228-234
- [28] Nagata D, Hishida E, Masuda T. Practical Strategy for Treating Chronic Kidney Disease (CKD)-Associated with Hypertension[J]. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 2020, 13: 171-178
- [29] Heerspink HJL, Sjöström CD, Inzucchi SE, et al. Reduction in albuminuria with dapagliflozin cannot be predicted by baseline clinical characteristics or changes in most other risk markers [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2019, 21: 720-725
- [30] Scholtes RA, van Baar MJB, Kok MD, et al. Renal haemodynamic and protective effects of renoactive drugs in type 2 diabetes: Interaction with SGLT2 inhibitors [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2021, 26: 377-390