

A bal kamrai miokardiális nátrium-glükózkotranszporter-1-expresszió vizsgálata végstádiumú szívelégtelenségben

Sayour Alex Ali¹, Oláh Attila¹, Ruppert Mihály¹,
Barta Bálint András¹, Horváth Eszter Mária²,
Benke Kálmán¹, Pólos Miklós¹, Hartyánszky István¹,
Merkely Béla¹, Radovits Tamás¹



A főszerkesztő
video-összefoglalója

¹Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet, Budapest

Levelezési cím:

Dr. Sayour Alex Ali, Semmelweis Egyetem, Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika, Juhász-Nagy Sándor Tudományos Kutatólaboratórium, 1122 Budapest, Városmajor u. 68. E-mail: alexali.sayour@gmail.com

Bevezetés: Nagy tanulmányok szerint a nátrium-glükózkotranszporter-2 (SGLT2)-inhibitorok javítják a kardiovaszkuláris kimenetelt a cukorbetegség fennálltától függetlenül. Annak ellenére, hogy ezen gyógyszerek aspecifikusan gátolják az SGLT1-fehérjét, kevés szakirodalmi adat van a miokardiális SGLT1-expresszióval kapcsolatban különféle szívelégtelen (SZE) betegcsoportokban. Célul tűztük ki a bal kamrai (BK) miokardiális SGLT1-expresszió vizsgálatát a két fő glükózkotranszporter (GLUT1 és GLUT4) mellett.

Módszerek: Kontroll (n=9) BK-i szívizommintákat gyűjtöttünk megtartott BK-i szisztolés funkciójú, mitrális regurgitáció miatt sebészi mitrális billentyűcserén áteső betegekből. Összesen 71 végstádiumú, szívtranszplantáción áteső SZE-beteg BK-i szívizommintáját használtuk fel az alábbi etiológiai alcsoportoknak megfelelően: hipertrófiás cardiomyopathia (HCM, n=7), idiopátiás dilatatív cardiomyopathia (DCM, n=12), iszkémiás szívbetegség (IHD, n=14), és IHD plusz cukorbetegség (IHD + T2DM, n=12), továbbá kardiális reszinkronizációs terápiában (CRT) részesülő SZE-betegcsoportok (CRT:DCM, n=9; CRT:IHD, n=9; CRT:IHD + T2DM, n=9). Megvizsgáltuk az SGLT1, GLUT1, és GLUT4 mRNS-expressziót polimeráz láncreakció (qRT-PCR) segítségével. Western blot analízissel mértük fel az SGLT1-fehérjeszintjét, továbbá az AMP-aktiválta protein-kináz (AMPK α) és az extracelluláris szignálregulálta kináz 1/2 (ERK1/2) aktivitását. Immunhisztokémiai festést végeztünk az SGLT1 vizualizációjára.

Eredmények: A kontrollokhoz képest a BK-i SGLT1 mRNS-expresszió szignifikánsan magasabb volt a DCM, IHD, és IHD-T2DM-csoportokban (minden $p < 0,05$), de nem tért el a HCM-csoportban. A BK-i SGLT1 mRNS és fehérje-expresszió szignifikánsan korrelált a BK-i dilatáció és szisztolés diszfunkció mértékével (minden $p < 0,01$), míg a másik két glükózkotranszporter esetében ez nem volt megfigyelhető. Immunhisztokémiai festés alapján az SGLT1-expresszió jelentős részéért a szívizomsejtek felelősek. Összességében a CRT csökkentette az SGLT1-expressziót, legfőképpen a DCM-csoportban.

Következtetések: A miokardiális BK-i SGLT1-expresszió upregulációja figyelhető meg SZE-betegekben (HCM kivételével), amely korrelál a BK-i dilatációval és szisztolés diszfunkcióval, míg a CRT annak szintjét csökkenti. Az SGLT1 BK-i remodelációban betöltött szerepének vizsgálatára további tanulmányok szükségesek.

Kulcsszavak: SGLT2-inhibitorok, SGLT1, szívelégtelenség, cukorbetegség

Készült Sayour et al. Cardiovasc Diabetol 2020; 19: 159. eredeti közleményének felhasználásával az eredeti közleményre vonatkozó Creative Commons Attribution 4.0 nemzetközi licenznek megfelelően (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

A kézirat 2023. 03. 28-án érkezett a szerkesztőségbe, 2023. 07. 25-én került elfogadásra.

Characterization of left ventricular myocardial sodium-glucose cotransporter 1 expression in patients with end-stage heart failure

Background: Sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors consistently showed cardiovascular protective effects in large outcome trials independent of the presence of type 2 diabetes mellitus (T2DM). Despite being non-specifically blocked by these agents, data are scarce regarding left ventricular (LV) SGLT1 expression in distinct HF pathologies. We aimed to characterize LV SGLT1 expression in human patients with end-stage HF, in context of the other two major glucose transporters: GLUT1 and GLUT4.

Methods: Control LV samples (Control, n=9) were harvested from patients with preserved LV systolic function who went through mitral valve replacement. LV samples from HF patients undergoing heart transplantation (n=71) were obtained according to the following etiological subgroups: hypertrophic cardiomyopathy (HCM, n=7); idiopathic dilated cardiomyopathy (DCM, n=12); ischemic heart disease without T2DM (IHD, n=14), IHD with T2DM (IHD + T2DM, n=11); and HF patients with cardiac resynchronization therapy (DCM:CRT, n=9, IHD:CRT, n=9 and IHD-T2DM:CRT, n=9). We measured LV SGLT1, GLUT1 and GLUT4 gene expressions with qRT-PCR. The protein expression of SGLT1, and activating phosphorylation of AMP-activated protein kinase (AMPK α) and extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) were quantified by western blotting. Immunohistochemical staining of SGLT1 was performed.

Results: Compared with controls, LV SGLT1 mRNA and protein expressions were significantly and comparably up-regulated in HF patients with DCM, IHD and IHD + T2DM (all $P < 0.05$), but not in HCM. LV SGLT1 mRNA and protein expressions positively correlated with LVEDD and negatively correlated with EF (all $P < 0.01$), which was not the case with the other two glucose transporters. Immunohistochemical staining revealed that SGLT1 was predominantly confined to cardiomyocytes, and not fibrotic tissue. Overall, CRT was associated with reduction of LV SGLT1 expression, especially in patients with DCM.

Conclusions: Myocardial LV SGLT1 is upregulated in patients with HF (except in those with HCM), correlates significantly with parameters of cardiac remodeling (LVEDD) and systolic function (EF), and is downregulated in DCM patients with CRT. The possible role of SGLT1 in LV remodeling needs to be elucidated.

Keywords: SGLT2 inhibitors, SGLT1, heart failure, diabetes mellitus

Bevezetés

A szelektív nátrium-glükóz-kotranszporter-2 (SGLT2)-gátlók újfajta orális antidiabetikumok, amelyek gátolják az SGLT2-t a vese proximális kanyarulat csatornáiban, fokozva ezzel a glükóz ürülését. A 2-es típusú cukorbetegségben (T2DM) (1–3), továbbá csökkent ejekciós frakciójú szívelégtelenségben (SZE) (4–6) végzett kardiovaszkuláris végpontú klinikai vizsgálatok szerint az SGLT2-gátlók nagymértékben csökkentették a SZE miatti hospitalizáció rizikóját a placebohoz képest. Mivel SZE-betegségben ezen hatás a cukorbetegség jelenlététől függetlenül fennállt, ezért felmerül direkt kardiovaszkuláris hatásmechanizmus (7–11), amely jelenleg nem teljesen tisztázott, tekintettel arra, hogy az SGLT2 nem expresszálódik a myocardiumban (9, 12–17).

Az SGLT2-vel ellentétben az SGLT1 mind egészséges, mind SZE-szívizomszövetben jelentős expressziót mutat (17–19), amelyről a közelmúltban kiderült, hogy hozzájárul a miokardiális glükózfelvételhez az eddig ismert glükóztanszporter-1 (GLUT1) és GLUT4 mellett (17, 18, 20–23). A humán miokardiális SGLT1-expresszió nagyfokú változást mutat különféle kardiovaszkuláris

betegségekben (16, 18, 24). A jelenleg forgalomban lévő SGLT2-inhibitorok változó mértékben szelektívek SGLT2-re az SGLT1-gyel szemben, amelyek közül a canagliflozin klinikailag releváns dózírálásban képes gátolni az intesztinális SGLT1-et (25, 26). A kombinált SGLT1/2-inhibitorok (pl. sotagliflozin) arra lettek kifejlesztve, hogy a posztprandiális glükózfelszívódást csökkentésük, miközben a vese SGLT2 gátlása révén glükózuriás hatást fejtenek ki (27). Azon egyének, akikben az SGLT1 genetikai okokból csökkent aktivitású, alacsonyabb eséllyel lesznek szívelégtelenségben (28). Nagy elemszámú randomizált tanulmányok szerint a kettős SGLT1/2-gátló sotagliflozin nagymértékben csökkentette a szívelégtelenség miatti hospitalizációt cukorbeteg populációban (29) és cukorbeteg SZE-betegségben (30).

Jelentős klinikai relevanciája ellenére nem teljesen ismert a miokardiális SGLT1 élettani és kórélettani szerepe (31). Egyes preklinikai tanulmányok szerint a kombinált SGLT1/2-gátlás növelheti a miokardiális diszfunkciót iszkémia-reperfúziós károsodást követően a miokardiális glükózfelvétel gátlása révén (19, 21).

A miokardiális SGLT1-expresszió növekedése esetén mind a kombinált SGLT1/2-gátlók, mind a szelektív SGLT2-gátlók befolyásolhatják az SGLT1-aktivitását (8). Ezért a miokardiális SGLT1-expresszió további karakterizációja különféle etiológiájú végstádiumú humán SZE-betegekben releváns lehet. Célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a bal kamrai (BK) SGLT1-expressziót a két másik jelentős glükóztranszporter GLUT1 és GLUT4 expressziójával együtt nagyszámú humán végstádiumú szívelégtelen mintán.

Módszerek

A Semmelweis Egyetem Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinika Transzplantációs Biobankjában tárolt klinikailag karakterizált, pseudoanonimizált humán szívizomszövet-mintákat használtuk fel tanulmányunk során (ETT TUKEB 7891/2012/EKU [119/PI/12.] és IV/10161-1/2020/EKU). A Helsinki Deklarációnak megfelelően mintavételezés előtt minden résztvevő tájékozott beleegyezést adott. A BK-i szívizomszövet-mintákat minden esetben sebészileg távolítottuk el, majd azonnal sokk-fagyasztottuk folyékony nitrogénben steril körülmények között további molekuláris mérések céljából, míg szövettani analízisekhez a BK-i mintákat 4%-os paraformaldehid oldatban konzerváltuk. A betegadatokat (anamnézis, gyógyszerek) és szívultrahang-mérés eredményeit (ejekciós frakció, EF; BK-i végdiasztolés átmérő, LVEDD) a biobanki adatbázisból használtuk fel.

Vizsgált populáció

Kontroll (n=9) gyanánt mitrális regurgitáció miatt sebészi mitrális billentyűcserén áteső betegek papilláris BK-i mintáit használtuk fel. Végstádiumú SZE-betegek (n=71) BK-i szívizomszövet-mintáit szívtranszplantáció során gyűjtöttük az explantált szívekből. A SZE-betegek esetében figyelembe vettük, hogy kardiális reszinkronizációs terápiában (CRT) részesültek-e vagy sem, továbbá etiológiai alapon az alábbi alcsoportokat alakítottuk ki a kritériumoknak megfelelően:

1. hipertrófiás cardiomyopathia (HCM, n=7);
2. dilatatív cardiomyopathia (DCM, n=12; és CRT:DCM, n=9): súlyos BK-i dilatáció amelyet nem magyaráz vitium; nincs releváns komorbiditás (hipertónia, T2DM); nincs releváns koronária-ateroszklerózis;
3. iszkémiás szívbetegség (IHD, n=14; és CRT:IHD, n=9): súlyos fokú, több fókuszú koronária-ateroszklerózis korábbi revaszkularizációval vagy anélkül;
4. IHD és T2DM (IHD-T2DM, n=11; és IHD-T2DM:CRT, n=9): súlyos fokú, több fókuszú koronária-ateroszklerózis korábbi revaszkularizációval vagy anélkül; T2DM, mint komorbiditás.

Génexpressziós vizsgálat

A myocardium teljes RNS-tartalmát izoláltuk, majd a 18S/28S rRNS arány alapján RNS integritási érté-

ket (RIN) számoltunk. Reverz transzkripciót követően a cDNS-mintákból kvantitatív valósídejű polimeráz láncreakció (qRT-PCR) segítségével az alábbi gének expresszióját vizsgáltuk (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA): Solute Carrier Family 5 Member 1 (SLC5A1, amely kódolja az SGLT1-fehérjét; ID: Hs01573793_m1); SLC5A2 (amely kódolja az SGLT2-fehérjét; ID: Hs00894642_m1); SLC2A1 (amely kódolja a GLUT1-fehérjét; ID: Hs00892681_m1); SLC2A4 (amely kódolja a GLUT4-fehérjét; ID: Hs00168966_m1); és gliceraldehyd-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH; ID: Hs99999905_m1). A génextpressziós adatokat a GAPDH-ra normalizáltuk.

Fehérje-expressziós vizsgálat

Az izolált BK-i miokardiális fehérjéket gélelektroforézissel választottuk szét majd membránokra blottoltuk, amelyeket az alábbi targetek elleni primer antitestekkel reagáltattunk (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA): SGLT1 (1:1000; ID: #5042); foszforilált adenzin-monofoszfát-aktiválta protein-kináz- α katalitikus alegység (P-AMPK α , Thr172) (1:1000; ID: #2535); total-AMPK α (1:1000; ID: #2532); foszforilált extracelluláris szignál-regulálta protein-kináz 1/2 (P-ERK1/2, Thr202/Tyr204) (1:1000; ID: #9101); total-ERK1/2 (1:1000; ID: #9102) és GAPDH (1:5000; ID: #5174).

A blotokat kemilumineszcens módszerrel hívtuk elő, amelyeket denzitometriailag elemeztünk, ezen értékeket minden esetben a megfelelő GAPDH denzitometriai értékére normalizáltuk.

Immunhisztokémia

Paraformaldehid (4%) fixációt majd paraffinos beágyazást követően a BK-i szívizomszövet metszeteken SGLT1 elleni immunhisztokémiai festést végeztünk. A metszeteket 40x-es nagyítás mellett beszkeneltük. Immunfluoreszcens vizsgálataink során SGLT1, Na-K-ATPáz és sejtmag-ellenes (DAPI) festést végeztünk, majd 40x-es nagyítás mellett beszkeneltük a metszeteket.

Statisztikai elemzés

A kontinuos változókat átlag \pm SEM formájában, míg a kategorikus változókat darabszám (százalék) formájában adtuk meg. Normalitás vizsgálatot és szükség szerinti transzformációt követően két független csoport közötti különbséget t-tesztel (Welch's korrekció) vizsgáltuk. Kettőnél több csoport átlagának összehasonlításához egyutas variancia-analízist (ANOVA) végeztünk (Welch's korrekció) Dunnett T3 poszt-hoc tesztel (referencia: kontrollcsoport). Az életkorra, nemre, és testtömegindexre való korrekciót kovariancia-analízis (ANCOVA) módszerrel végeztük. Két kontinuos változó közötti korrelációt Spearman-analízissel vizsgáltuk, majd az életkor, nem, és testtömegindex hatását parciális korrelációval kvantifikáltuk. Minden esetben a $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

Eredmények

Vizsgált populáció

A páciensek jellemzőit a vizsgált csoportnak megfelelően az 1. táblázat tartalmazza. Látható, hogy a kontrollgyének összességében megtartott BK-i szisztolés funkcióval rendelkeztek, míg a SZE-csoportokban (beleértve a HCM-es betegeket is) súlyos fokban csökkent EF-et regisztráltunk.

A glükóztranszporterek (SGLT1, SGLT2, GLUT1, és GLUT4) BK-i mRNS-expressziója

A BK-i miokardiális SGLT1 mRNS-expresszió eltért a vizsgált csoportok között (ANOVA $P=0,004$) (1. A ábra). A kontrollokhoz képest az SGLT1 mRNS-expresszió számottevően magasabb volt a DCM-csoportban ($p=0,007$), míg a HCM-es betegek mintáiban nem volt változás ($p=0,83$) (1. A ábra). Az iszkémiás szívbetegek (IHD) mintáiban szintén szignifikáns mértékben megemelkedett az SGLT1-expresszió, amely a cukorbetegségtől függetlenül fennállt ($p<0,05$ minkét esetben) (1. A ábra). ANCOVA-modell alapján ezen különbségek függetlenek voltak az életkortól, nemtől, és testtömegindextől.

Miokardiális SGLT2 mRNS-expresszió egyik vizsgált csoportban sem volt kimutatható.

A BK-i GLUT1 mRNS-expresszió szignifikánsan magasabb volt a DCM, IHD, és IHD-T2DM-csoportokban kontrollokhoz képest (minden $p<0,05$), míg HCM-es betegekben eltérést nem találtunk ($p=1,00$) (1. B ábra).

Életkorra, nemre, és testtömegindexre történt korrekciót követően ezen különbségek eltűntek.

A GLUT4 mRNS-expresszió nem mutatott szignifikáns eltérést egyik vizsgált SZE-csoportban sem kontrollokhoz képest (1. C ábra).

A három fő miokardiális glükóztranszporter expressziójának korrelációja

Annak ellenére, hogy az SGLT1 és GLUT1 BK-i mRNS-expressziója hasonló mértékben megnövekedett az DCM, IHD, és IHD-T2DM-csoportokban kontrollokhoz képest, expressziójuk egymással nem korrelált ($r_s = -0,008$; $p=0,95$) (1. D ábra). A korreláció hiánya fennállt életkorra, nemre, és testtömegindexre történő korrekciót követően is ($r = -0,060$; $p=0,69$). Ezzel szemben az GLUT4 mind az SGLT1 ($r_s = 0,379$; $p=0,006$) (1. E ábra), mind a GLUT1 ($r_s = 0,294$; $p=0,032$) (1. F ábra) mRNS-expressziójával szignifikánsan korrelált.

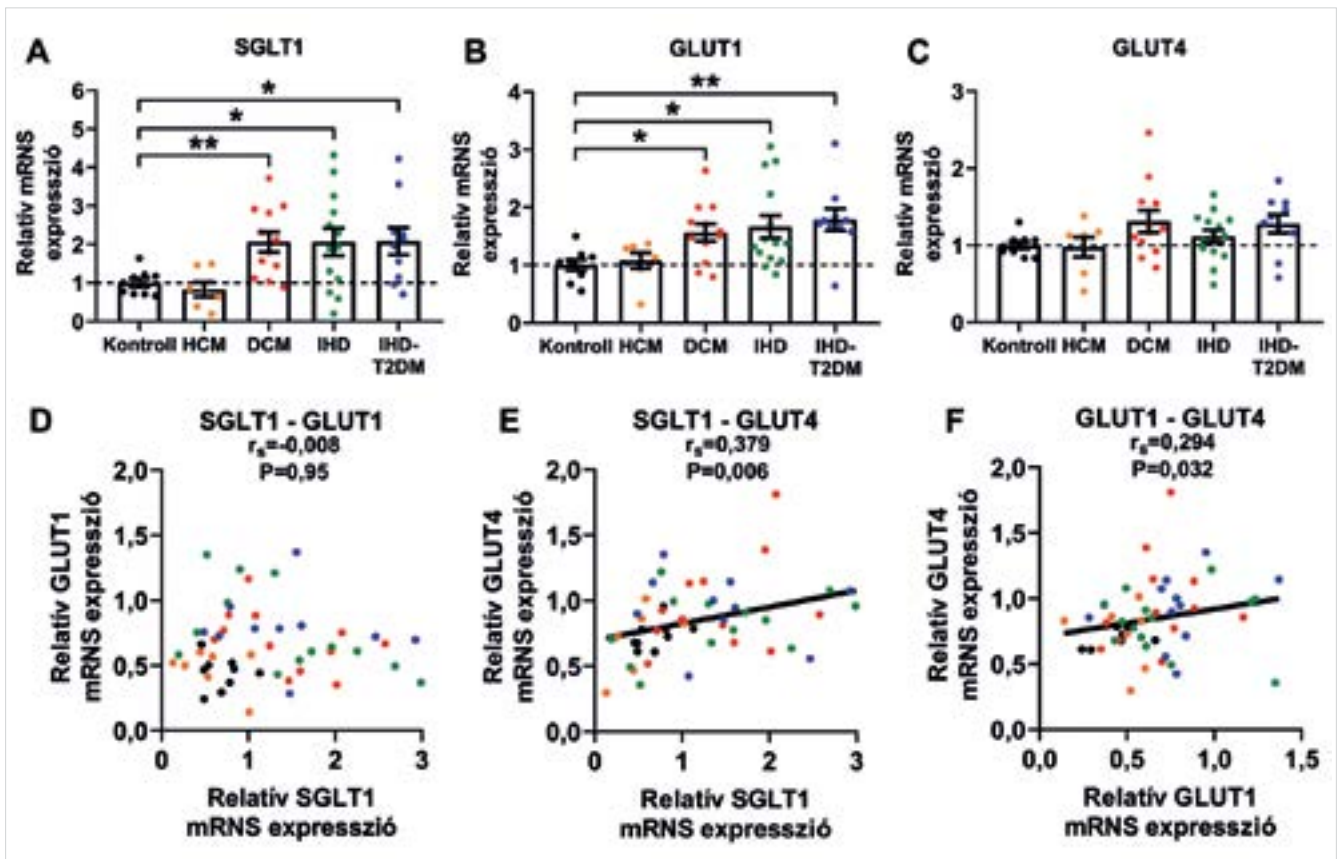
A glükóztranszporterek expressziójának korrelációja szívultrahangos paraméterekkel

A BK-i SGLT1 mRNS-expresszió szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a BK-i dilatáció mértékével, vagyis az LVEDD-vel ($r_s = 0,493$; $p<0,001$) (2. A ábra). Hasonlóan erős, negatív korreláció mutatkozott a BK-i SGLT1 mRNS-expresszió és szisztolés funkció marker EF között ($r_s = -0,477$; $p<0,001$) (2. B ábra). Parciális

1. TÁBLÁZAT. Páciensek jellemzői és a bal kamrai szívizomminták RNS-integritása (BMI: testtömegindex; CRT: kardiális reszinkronizációs terápia; DCM: dilatatív cardiomyopathia; EF: bal kamrai ejekciós frakció; HCM: hipertrófiás cardiomyopathia; IHD: iszkémiás szívbetegség; LVEDD: bal kamrai végdiasztolés átmérő; RIN: RNS-integritási érték; T2DM: 2-es típusú cukorbetegség)

	Kontroll (n=9)	HCM (n=7)	DCM (n=12)	IHD (n=14)	IHD-T2DM (n=11)	CRT: DCM (n=9)	CRT: IHD (n=9)	CRT: IHD-T2DM (n=9)
Életkor (évek)	68,6±1,9	36,6±4,4	46,8±3,4	58,7±1,4	57,0±1,4	47,7± 4,1	59,0±1,6	60,1±1,6
Nem (nő, %)	8/9 (89%)	4/7 (57%)	2/12 (17%)	5/12 (36%)	3/11 (27%)	3/9 (33%)	0/9 (0%)	2/9 (22%)
BMI (kg/m ²)	26,1±1,6	25,5±1,9	25,7±1,6	26,5±0,8	27,9±0,9	23,5±1,0	27,7±1,6	30,0±1,1
LVEDD (mm)	53,2±4,0	50,7±4,6	73,4±2,6	69,9±2,7	63,9±2,7	76,2±3,8	70,6±6,2	70,0±3,6
EF (%)	61,2±3,4	36,9±4,6	21,9±1,1	27,3±1,4	22,9±1,9	19,3±2,7	19,7±2,4	23,3±2,4
CRT, évek	–	–	–	–	–	2,9±0,6	3,2±1,8	3,4±0,8
Béta-blokkoló	8/9 (89%)	5/7 (71%)	9/12 (75%)	11/14 (79%)	4/11 (36%)	2/9 (22%)	8/9 (89%)	8/9 (89%)
Renin–angiotenzin rendszer inhibitor	1/9 (11%)	0/7 (0%)	7/12 (58%)	11/14 (79%)	9/11 (82%)	3/9 (33%)	7/9 (78%)	8/9 (89%)
Mineralokortikoid-receptor-antagonista	2/9 (22%)	4/7 (57%)	9/12 (75%)	13/14 (89%)	8/11 (73%)	6/9 (67%)	8/9 (89%)	6/9 (67%)
Kacsdiretikum	4/9 (44%)	4/7 (57%)	10/12 (83%)	11/14 (79%)	7/11 (64%)	7/9 (78%)	7/9 (78%)	6/9 (67%)
Statin	3/9 (33%)	0/7 (0%)	2/12 (17%)	7/14 (50%)	6/11 (55%)	0/9 (0%)	4/9 (44%)	8/9 (89%)
Metformin	–	–	–	–	6/11 (55%)	–	–	5/9 (55%)
Inzulin	–	–	–	–	3/11 (27%)	–	–	1/9 (11%)
RIN	9,3±0,1	8,3±0,4	8,4±0,3	8,1±0,4	8,2±0,3	7,9±0,3	8,0±0,3	7,9±0,3

Kontinuus változók: átlag ± SEM; kategorikus változók: darabszám és százalék



1. ÁBRA. A három fő miokardiális glükóztranszporter mRNS-expressziója és azok korrelációja. A–C: A nátrium-glükóz-kotranszporter-1 (SGLT1), glükóztranszporter-1 (GLUT1), és GLUT4 bal kamrai mRNS-expressziója kontroll és szívelégtelen betegcsoportokban. D–F: A három fő miokardiális glükóztranszporter bal kamrai mRNS-expressziójának korrelációja * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

korrelációs analízis alapján ezen összefüggések függetlenek voltak az életkortól, nemtől, és testtömegindextől (LVEDD-SGLT1: $r = 0,476$, $p = 0,002$; EF-SGLT1: $r = -0,542$, $p < 0,001$).

A GLUT1 mRNS-expresszió ezzel szemben szignifikáns negatív összefüggést mutatott az EF-fel ($r_s = -0,333$; $p = 0,017$) (2. D ábra), míg a BK-i dilatációval (LVEDD) nem korrelált ($r_s = 0,168$, $p = 0,26$) (2. C ábra).

A BK-i GLUT4 mRNS-expresszió szignifikánsan korrelált a BK-i dilatációval (LVEDD) ($r_s = 0,407$, $p = 0,005$) (2. E ábra), míg a BK-i EF-val nem mutatott számottevő összefüggést ($r_s = -0,241$, $p = 0,088$) (2. F ábra).

SGLT1 protein-expresszió, ERK1/2 és AMPK α -foszforiláció

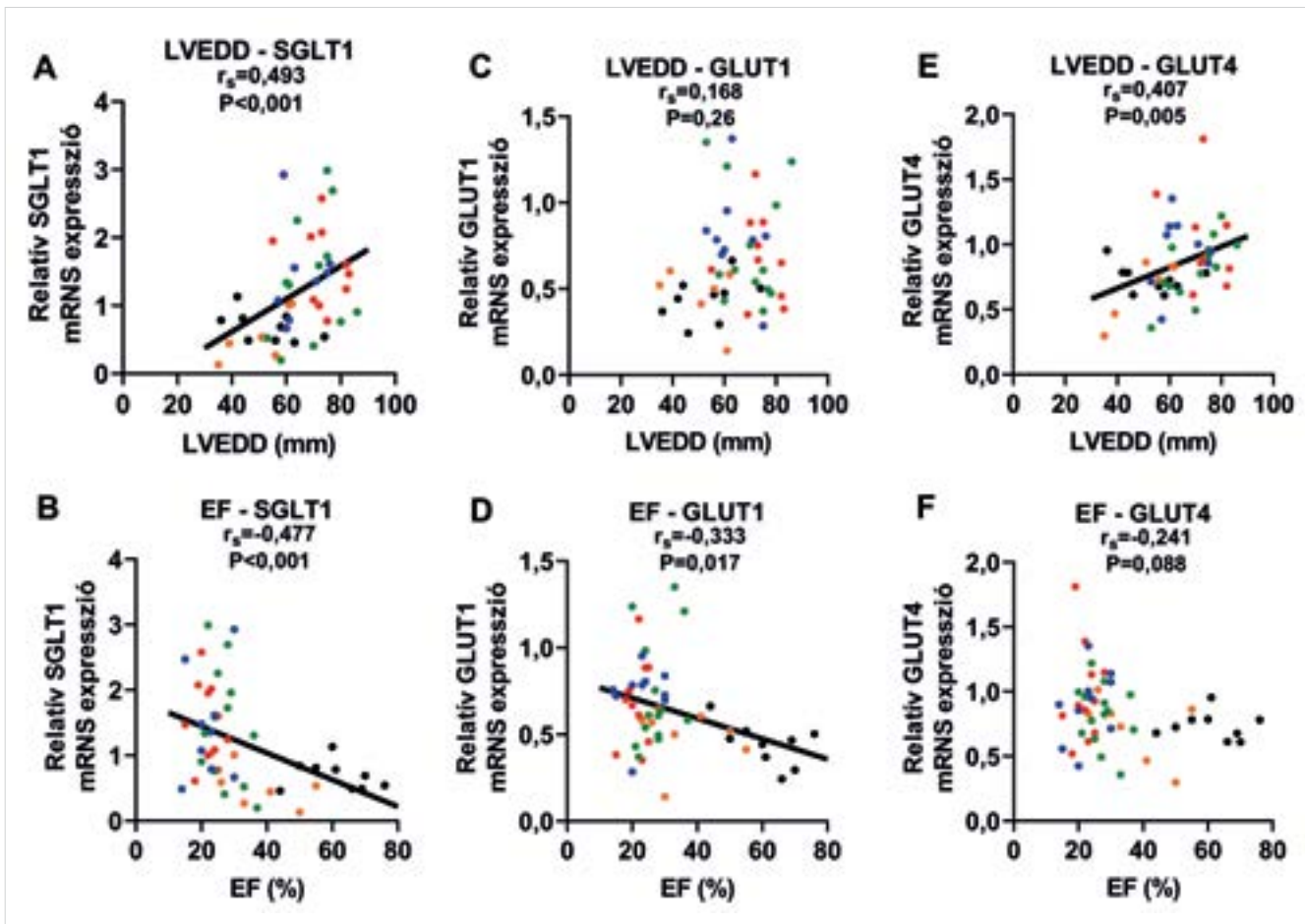
Western blot analízis alapján a BK-i SGLT1 protein-expresszió szignifikánsan magasabbnak adódott a DCM, IHD, és IHD-T2DM-csoportokban kontrollokhöz képest ($p < 0,05$), míg a HCM-csoport esetében expressziója változatlan volt (3. A ábra). A BK-i SGLT1 protein-expresszió szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a BK-i végdiasztolés átmérővel (LVEDD) ($r_s = 0,411$, $p = 0,008$), míg negatívan korrelált az EF-fel ($r_s = -0,583$, $p < 0,001$) (3. D ábra), hasonlóan mRNS-expressziós eredményeinkhez.

Az ERK1/2 foszforilációja az aktivációs helyen (Thr202/Tyr204) számottevő csökkenést mutatott a HCM-csoport kivételével a DCM, IHD, és IHD-T2DM-csoportokban kontrollokhöz képest ($p < 0,05$) (3. B ábra), amely így reciprokváltozást mutatott az SGLT1 protein-expresszióhoz képest. Kontrollokhöz képest az AMPK α foszforilációja az aktivációs helyen (Thr172) numerikusan magasabbnak adódott a DCM- és IHD-csoportok esetében, azonban szignifikánsan csak az IHD-T2DM-csoportban emelkedett ($p = 0,036$) (3. C ábra).

A miokardiális SGLT1-expresszió hisztológiai vizsgálata

A 4. ábra „A” része egy DCM-es beteg reprezentatív szubepikardiális szövettani metszetét demonstrálja, amelyet SGLT1 elleni antitesttel festettünk. Az SGLT1 expressziójának megfelelő barna színű elszíneződés leginkább a cardiomyocyták területén volt megfigyelhető, míg a kötőszövet és zsírszövet elhanyagolható SGLT1-pozitivitást mutatott (4. A ábra). A miokardiális SGLT1-expresszió hasonló hisztológiai eloszlása volt megfigyelhető minden vizsgált betegcsoportban (4. B ábra).

Immunfluoreszcens festés alapján az SGLT1 szinte kizárólagos ko-lokalizációt mutatott a szarkolemma



2. ÁBRA. A három fő miokardiális glükóztanszporter mRNS-expressziójának korrelációja echokardiográfiás paraméterekkel. **A–B:** A nátrium-glükóz-kotranszporter 1 (SGLT1) korrelációja a bal kamrai dilatációval (LVEDD) és szisztolés funkcióval (EF). **C–D:** A bal kamrai glükóztanszporter 1 (GLUT1) mRNS-expresszió korrelációja az LVEDD- és EF-értékekkel. **E–F:** A bal kamrai GLUT4 mRNS-expresszió korrelációja az LVEDD- és EF-értékekkel

(membrán)-specifikus Na-K-ATPáz markerrel (4. C ábra), ami arra utal, hogy az SGLT1 a cardiomyocyták plazmamembránjában van jelen.

A CRT hatása a BK-i SGLT1, GLUT1 és GLUT4-expresszióra

A szívtranszplantációig CRT-ben részesülő betegek esetében a BK-i SGLT1 mRNS-expresszió szignifikáns csökkenést mutatott a CRT-ben nem részesülő betegekhez képest ($p=0,045$) (5. A ábra). Etiológiai alcsoportok szerinti összehasonlítás során azt találtuk, hogy a CRT a DCM-es betegek esetében szignifikánsan kisebb SGLT1 mRNS-expresszióval járt ($p=0,026$) (5. A ábra). Ezen különbség szignifikánsnak bizonyult életkortól, nemtől, és testtömegindextől függetlenül ($p=0,048$). Ezzel szemben az SGLT1 mRNS-expresszió nem mutatott különbséget CRT hatására az IHD és IHD-T2DM-csoportokban (5. A ábra). Fenti mRNS-expressziós eredményekkel összhangban a DCM-csoport esetében CRT hatására alacsonyabb SGLT1 proteinexpressziót detektáltunk ($p=0,029$) (5. D ábra). Ezen betegcsoportban szintén megfigyelhe-

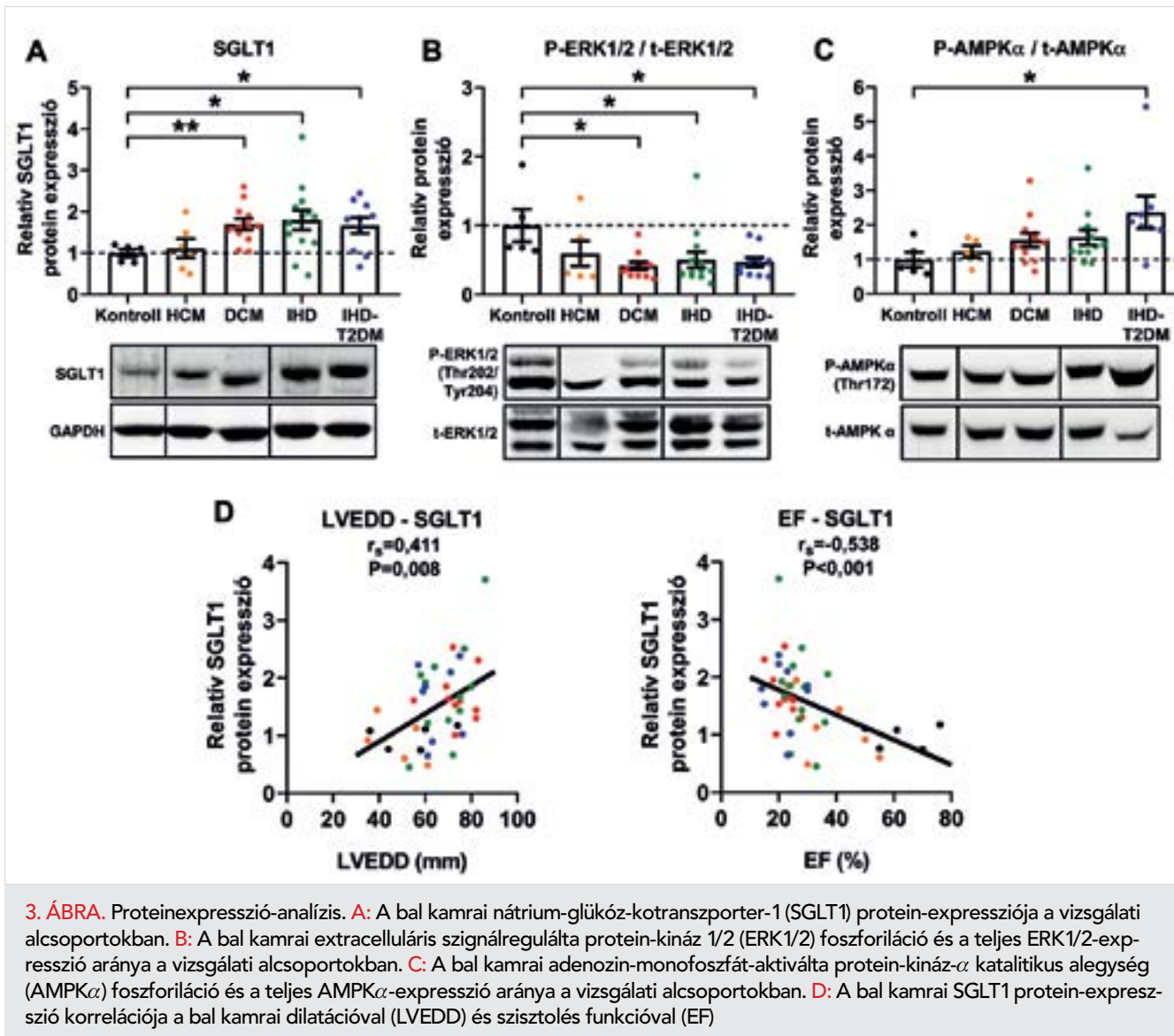
tő volt az ERK1/2 foszforiláció-reciprok növekedése ($p=0,045$) (5. E ábra).

A CRT nem mutatott számottevő hatást a GLUT1 és GLUT4 mRNS-expresszióra a vizsgált SZE-populációkban (5. B–C ábra).

Megbeszélés

Jelen tanulmányunk az első, amely átfogó elemzést nyújt nagy elemszámú, végstádiumú SZE-beteg BK-i SGLT1 expressziójáról a két másik fő glükóztanszporterrel (GLUT1 és GLUT4) összefüggésben. Eredményeink szerint a BK-i SGLT1-expresszió SZE etiológia szerinti különbségeket mutat, korrelál a BK-i dilatáció és szisztolés diszfunkció mértékével, és eltér CRT hatására DCM-es betegekben.

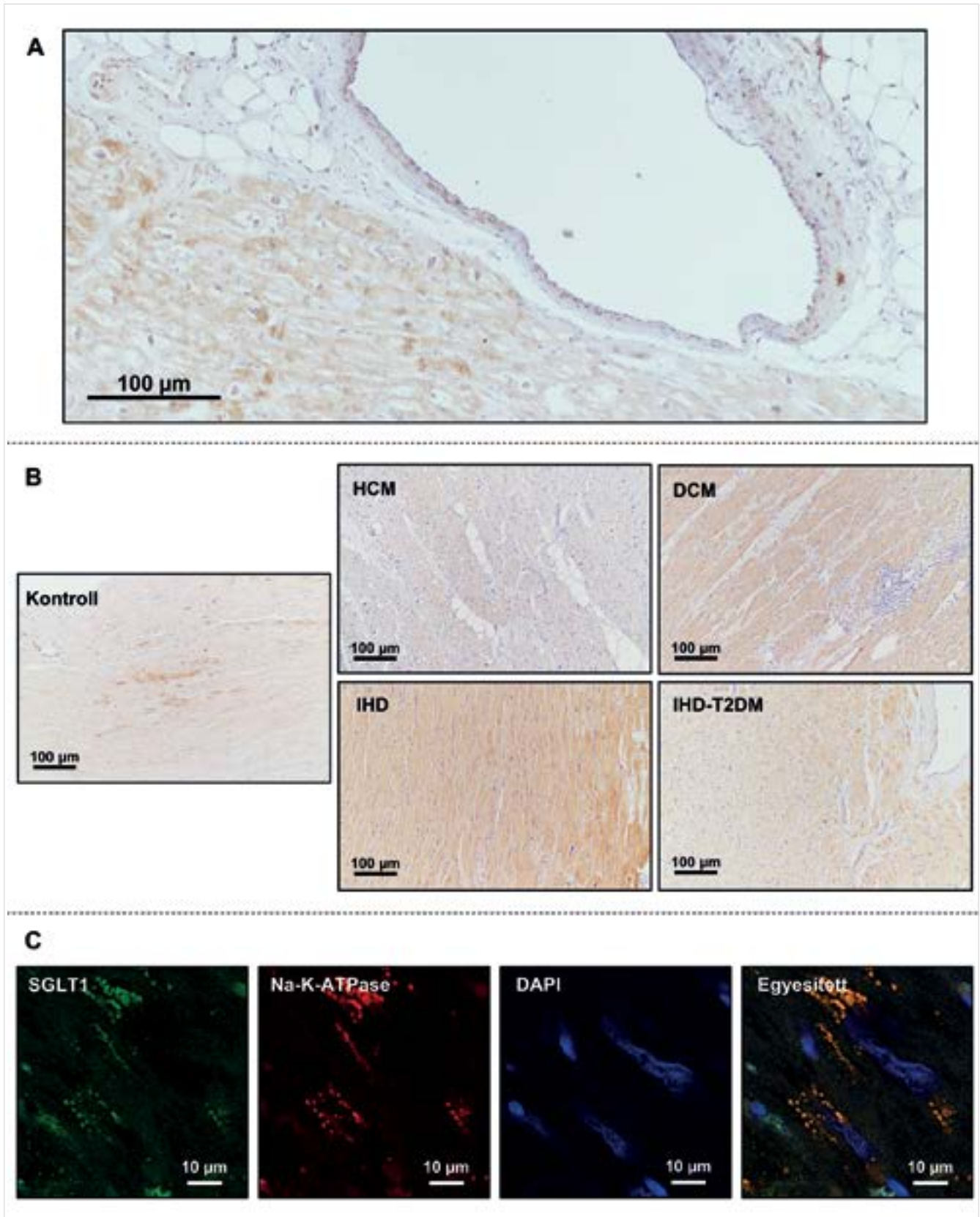
Nagyvolumenű, kardiovaszkuláris kimenetelt vizsgáló klinikai vizsgálatok szerint az SGLT2-gátlók konzisztensen csökkentették a SZE miatti hospitalizációt 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegek körében (1–3). A kiinduláskor már eleve SZE-ben szen-



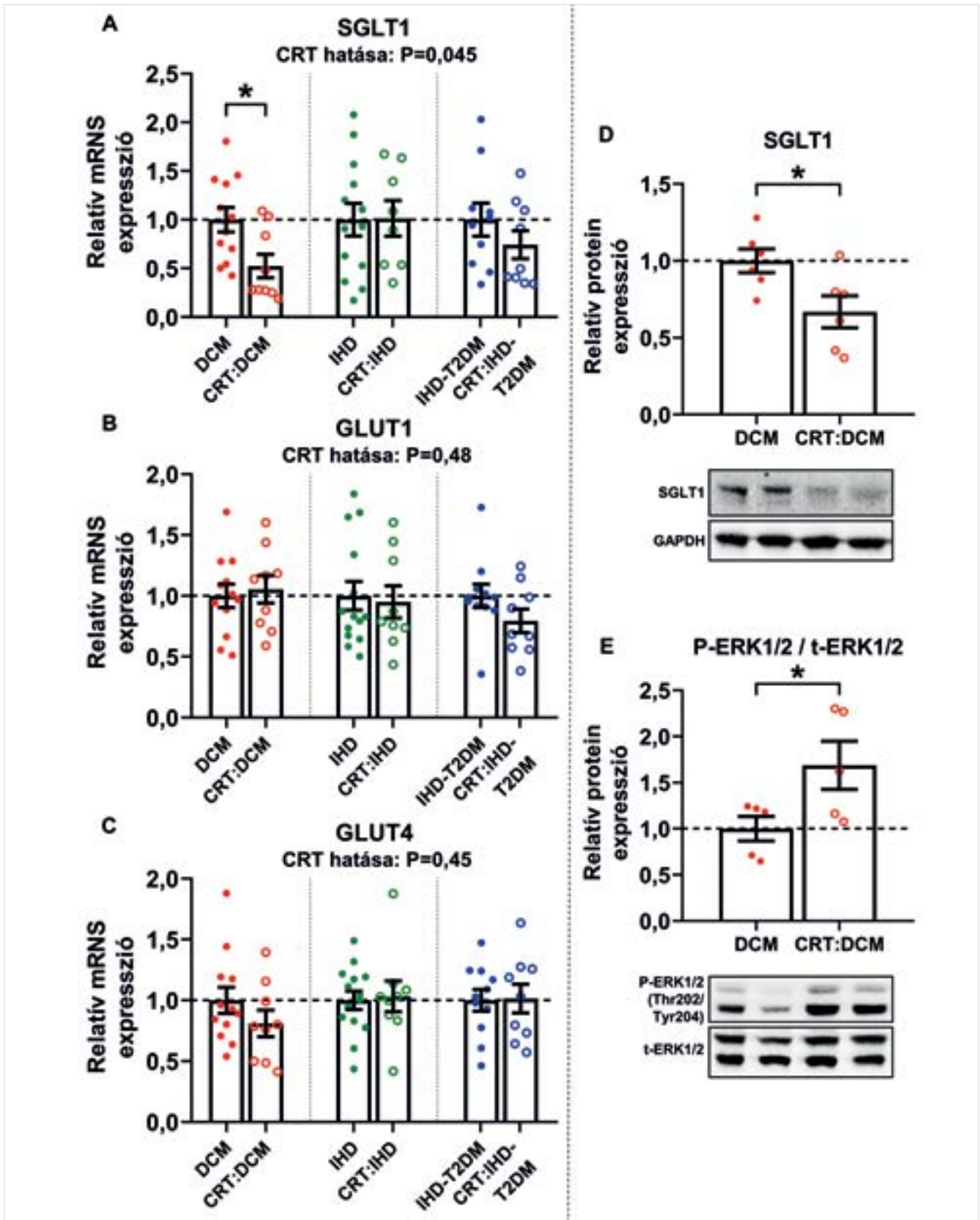
védő betegek esetében volt a leghatásosabb a kezelés (32), amely következtében számos teória született a hatásmechanizmust illetően. Azonban két dedikált SZE vizsgálat szerint (DAPA-HF és EMPEROR-Reduced) az SGLT2-gátló dapagliflozin és empagliflozin cukorbetegségtől függetlenül hatásosnak bizonyult csökkent ejekciós frakciójú SZE-betegekben (5, 6). Ezen adatok azt sugallják, hogy az SGLT2-gátlók direkt kardiovaszkuláris hatást fejthetnek ki SZE-betegekben (33, 34). Ezen direkt hatás mechanizmusa jelenleg nem teljesen ismert, mivel az SGLT2 nem expresszálódik a myocardiumban (15, 16). Jelen tanulmányunkban humán BK-i szívminiókon nem sikerült SGLT2 mRNS-expressziót detektálnunk. Ezzel szemben viszont nem rég kiderült, hogy az SGLT1 nagymértékben expresszálódik a szívizomzatban hasonlóan a GLUT1-hez és GLUT4-hez (17–21). Amennyiben az SGLT1-expresszió megnövekszik, úgy a kettős SGLT1/2-gátlók vagy akár a szelektív SGLT2-inhibitorok is gátolhatják a miokardiális SGLT1-

et, amely jelenleg nem tisztázott (8). Jelentősége ellenére azonban nagy mennyiségű, klinikailag karakterizált SZE-mintán továbbra sem került vizsgálatra az SGLT1-expresszió.

Jelen tanulmányunk eredményei szerint a BK-i SGLT1-expresszió eltér a SZE etiológiája szerint. A HCM-mel élő betegek esetében a BK-i SGLT1-expresszió nem tért el a kontrollokhöz képest. Egy korábbi vizsgálat szerint szeptális myectomián áteső HCM-es betegekből származó myocardium mintákban az SGLT1-expresszió ~1,4-szeres növekedést mutatott a kontrollokhöz képest (17). Bár azon vizsgálatban a betegek klinikailag nem voltak karakterizálva, nagy valószínűséggel a betegek nem végstádiumú SZE szakaszában voltak (16), ellentétben jelen vizsgálatunkban szereplő HCM-es betegekkal, akiknek nagymértékben csökkent EF-értéke volt. A DCM-mel élő betegek körében azonban számottevően emelkedett BK-i SGLT1-expressziót találtunk a kontrollokhöz képest. Ez



4. ÁBRA. A nátrium-glükóz-kotranszporter-1 (SGLT1) immunhisztokémiai vizsgálata. **A:** Reprezentatív szubepikardiális szövettani metszet SGLT1 immunhisztokémiai festéssel egy dilatatív cardiomyopathiában (DCM) szenvedő beteg bal kamrai szövetmintájából. **B:** A vizsgálati alcsoportoknak megfelelő reprezentatív myocardium-metszetek SGLT1 elleni festéssel. **C:** Reprezentatív immunfluoreszcens metszet SGLT1, Na-K-ATPáz, és sejtmag (DAPI) megjelöléssel, illetve ezek fúziójával



5 ÁBRA. A kardiális reszinkronizációs terápia (CRT) hatása a bal kamrai glükóztanszporterek expressziójára szívelégtelen betegek myocardiumában. **A–C:** A nátrium-glükóz-kotranszporter-1 (SGLT1), glükóztanszporter-1 (GLUT1), és GLUT4 mRNS-expressziójának összefüggése a szívelégtelenség alcsoportjainak megfelelően CRT hatására. **D–E:** A bal kamrai SGLT1 protein-expresszió és az extracelluláris szignálregulálta protein-kináz 1/2 (ERK1/2) foszforiláció és a teljes ERK1/2-expresszió aránya dilatatív cardiomyopathiában (DCM) szenvedő betegek esetében

látszólag ellent mond a *Banerjee és munkatársai* (18) által korábban publikált eredményeknek, akik nem találtak számottevő eltérést DCM-es betegekben egészséges kontrollokhöz képest. Azonban tanulmányukból nem derül ki, hogy a DCM-es betegek milyen arányban részesültek CRT-ben. Jelen eredményeink szerint ugyanis a CRT-ben részesülő DCM-es betegekben a BK-i SGLT1-expresszió alacsonyabbnak bizonyult, amely magyarázhatja ezen különbségeket. Eredményeinkhez hasonlóan *Lambert és munkatársai* (24) szintén számottevően emelkedett SGLT1-expressziót találtak kevert SZE etológiájú (DCM és IHD) csoportban a kontrollokhöz képest. Jelen tanulmányunkban az IHD-csoportban szignifikáns SGLT1-expresszió-növekedést találtunk, hasonlóan korábbi eredményekhez (16, 18).

Korábbi tanulmányok szerint rágcsálómodellekben az akut miokardiális iszkémia hatására megnövekszik a BK-i SGLT1-expresszió (18, 35), miközben az először leszálló koszorúér permanens lekötésének következtében az intakt szívterületen szintén emelkedik az SGLT1-expresszió (36). Ezek alapján az SGLT1 kulcs szerepet játszhat az IHD kialakulásában. Azonban az SGLT1 farmakológiai gátlása akut iszkémia során eddig kétélűnek bizonyult. A nem szelektív SGLT1/2-gátló phlorizin súlyosította a BK-i diszfunkciót *ex vivo* miokardiális iszkémia-reperfúziós károsodás modellen, feltehetőleg a glükózfelvétel gátlása következtében, amely felveti, hogy az SGLT1 kompenzatorikus szerepet játszhat akut miokardiális iszkémia-reperfúziós károsodás során (19, 21). Krónikus IHD kisállatmodelleken egy korábbi tanulmányban a gyógyszeres kettős SGLT1/2-gátlás káros hatását írták ki (37), míg mások védőhatást találtak (36, 38). Ezen vizsgálatokban megfigyelt különbségeket off-target mechanizmusok és dózisbeli eltérések magyarázhatják, mindazonáltal az SGLT1 cardiomyocytá-specifikus génkiütése csökkenti az infarktus területet akut miokardiális iszkémia-reperfúziós károsodás egérmodelljén mind *ex vivo*, mind *in vivo* körülmények között (35). Az SGLT1 génkiütése kivédi a renális iszkémia-reperfúziós károsodást is (39). Jelen tanulmányunkban az IHD-betegekben a BK-i SGLT1-expresszió szignifikáns növekedését találtuk, amely hasonló mértékűnek adódott cukorbetegben és nem cukorbetegben, amely arra utalhat, hogy a SZE hatására eleve megemelkedő SGLT1-expressziót cukorbetegség megléte tovább már nem növeli. Egy korábbi tanulmány szerint diabéteszes cardiomyopáthiában szenvedő betegekben a miokardiális SGLT1-expresszió hasonló volt a nem diabéteszes IHD-betegekhez (24). Míg az SGLT1 szerepe iszkémiában vitatott, számos adat utal egyértelműen arra, hogy az SGLT1 szerepet játszik a sejtszintű károsodásban hyperglykaemiás körülmények között. Egy korábbi tanulmány szerint az inzulin-indukálta miokardiális glükózfelvétel legfőbb mediátora az SGLT1 mind egészséges eger cardiomyocytáiban (18), mind humán SZE cardio-

myocytákban (17). Cukorbeteg patkányok cardiomyocytáiban ezen SGLT1-dependens glükózfelvétel az intracelluláris nátriumion-koncentráció növekedésével járt (24). Utóbbi egy fontos patológiai jellemzője a SZE-nek (8). Patkány szívizomsejtekben magasabb extracelluláris glükózkoncentráció hatására az SGLT1 hozzájárul a kardiális glükotoxicitáshoz a NADPH-oxidáz aktivációja révén (40), míg hasonló hyperglykaemiás környezetben növeli a profibrotikus jelátvitelt humán szív eredetű fibroblasztokban (41). Jelen tanulmányunkban azonban immunhisztokémiai módszerekkel kimutattuk, hogy az SGLT1-expresszióért elsődlegesen a cardiomyocyták felelősek, és nem a kötőszövet, amely egybevág a korábbi eredményekkel (19). Továbbá az SGLT1-expresszió szinte kizárólagos átfedést mutatott a Na-K-ATPáz expressziójával, utalva arra, hogy a cardiomyocyták membránjában helyezkedik el, hasonlóan más publikációkhoz egérszívekben (18, 36) és humán szív mintákban (16).

Jelen tanulmányunk az első, amely szignifikáns, pozitív korrelációt ír le a BK-i SGLT1-expresszió és BK-i dilatáció között. Mindemellett, az SGLT1-expresszió összefüggést mutatott a BK-i szisztolés diszfunkcióval. Míg ezen eredményekből ok-okozati összefüggés nem vonható le, egyre több evidencia mutat arra, hogy az SGLT1 expressziójának krónikus megnövekedése patológiás változásokhoz vezet. Az SGLT1 cardiomyocytá-specifikus túlexpresszállása nem diabéteszes egerekben szívizom-hipertrofiához és SZE-hez vezet, a kötőszöveti elemek akkumulációjával, megnövekedett BK-i átmérővel és csökkent szisztolés funkcióval (20). Érdekes módon 10 hetes túlexpressziót követően az SGLT1-expresszió csökkentésével a BK-i dilatáció csökkent, a szisztolés funkció javult (20). Tehát az SGLT1 expressziójának növekedése önmagában elég a SZE kiváltásához, míg az SGLT1 expressziójának csökkentése kivédi a SZE progresszióját reverz remodeláció révén.

A miokardiális SGLT1 expresszióját szabályozó folyamatok jelenleg nem teljesen ismertek. Egerekben a miokardiális AMPK túlzott aktiválásával SGLT1-dependens glikogénfelhalmozódás alakul ki BK-i dilatációval (20). Jelen tanulmányunkban a BK-i AMPK α aktivációját jelző foszforiláció számottevően csak cukorbetegségben szenvedő SZE-betegekben növekedett meg. Ezzel ellentétben, az ERK1/2 aktivációs foszforilációja csökkent a DCM, IHD, és IHD-T2DM-csoportokban kontrollokhöz képest. Ez összhangban áll korábbi tanulmányokkal, amelyek szerint az ERK1/2-foszforiláció SZE-ben csökkenést mutat egészséges patkányokhoz, illetve humán alanyokhoz képest (42, 43). Tanulmányunkban az ERK1/2 csökkent foszforilációját SZE-betegekben az SGLT1 expressziójának növekedése követte. Érdekes módon egy korábbi vizsgálat szerint az SGLT1 génkiütése egerekben elegendő ahhoz, hogy megnövekedjen az ERK1/2 foszforilációja, ezzel megelőzve a SZE kialakulását (44). Ezzel ellentétben

nyúlvese-eredetű proximális tubulus sejtenyészeten végzett vizsgálatok szerint az SGLT1 expressziójának csökkenése összefüggött az emelkedett ERK1/2 aktivitással (45–47). Ezekkel együtt jelen eredményeink felvetik, hogy az ERK1/2 az SGLT1 egy lehetséges negatív regulátora.

A fentiekkel összhangban kimutattuk, hogy a CRT-ben részesülő DCM-es betegek körében a csökkent BK-i SGLT1-expresszió az ERK1/2 foszforilációjának növekedésével járt az CRT-ben nem részesülő DCM-es betegekhez képest. Jól ismert, hogy az CRT kedvező molekuláris változásokat indukál, legfőképpen DCM-es betegekben (48). Kiemelendő azonban, hogy jelen tanulmányunkban valamennyi beteg terminális SZE-ben szenvedett. Azonban CRT hatása ettől függetlenül molekuláris szinten részben érvényesülhet, amely további vizsgálatra szorul. Annak ellenére, hogy a CRT-ben részesülő és nem részesülő DCM-csoportban hasonló volt a BK-i dilatáció és szisztolés diszfunkció mértéke, az SGLT1 expresszió csökkent az eszközös terápiában részesülő csoportban, amely életkortól, nemtől, és testtömegindextől független volt. Ezzel ellentétben az ERK1/2-foszforiláció magasabb volt, amely tovább erősítheti azon gondolatot, miszerint az ERK1/2 az SGLT1 egy negatív regulátora lehet.

Vizsgáltuk a másik két fő miokardiális glükóztranszporter expresszióját is. Eredményeink szerint az SGLT1 mRNS-expressziójának számottevő megnövekedése ellenére a GLUT1-expresszió csak kismértékben emelkedett, összefüggést pedig a két glükóztranszporter expressziója között nem találtunk. Azon egerekben, amelyekben az SGLT1-gén inaktív, a GLUT1-expresszió nem mutat kompenzatorikus változást (20). Mindez azt mutathatja, hogy az SGLT1 és GLUT1 eltérő szerepet tölt be a SZE patofiziológiájában. Ellentétben az SGLT1-gyel, a GLUT1 expressziójának növelése kivédi a SZE kialakulását egérmodellben (49). Tehát a GLUT1 expressziójának hosszú távú megnövekedése az SGLT1-gyel szemben egy kompenzatorikus mechanizmus lehet SZE-ben. Egérmodellekben az SGLT1 és GLUT1-manipuláció nem befolyásolja a GLUT4-expressziót. Egy korábbi humán tanulmánnyal összhangban (17) változatlan BK-i GLUT4 mRNS-expressziót találtunk végstádiumú SZE-mintákban, azonban membránfrakcióban nem vizsgáltuk külön az expresszióját, ami a munkánk egyik limitációját jelenti. A CRT nem volt hatással a GLUT1 és GLUT4 mRNS-expresszióira.

Következtetések

A BK-i SGLT1-expresszió etiológiáfüggő növekedést mutat végstádiumú SZE-betegek myocardiumában, és szorosan összefügg a BK-i dilatáció és szisztolés diszfunkció mértékével. Az ERK1/2 negatív regulátora lehet az SGLT1-expresszióknak. Az SGLT1 SZE kialakulásában betöltött patofiziológiai jelentősége és annak

gyógyszeres gátlásából adódó kardioprotekció létjogosultsága további tanulmányok tárgyát képezik.

Támogatás

Jelen tanulmányt az alábbi projektek támogatták: Új Nemzeti Kiválósági Program (ÚNKP-19-3-II); Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NVKP_16-1-2016-0017 – Nemzeti Szívprogram; továbbá a K134939 projekt), Innovációs és Technológiai Minisztérium Tématerületi Kiválósági Programja (TKP2021-EGA-23). Az RRF-2.3.1-21-2022-00003 számú projekt az Európai Unió támogatásával valósult meg.

Irodalom

- Zinman B, Wanner C, Lachin JM, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2015; 373(22): 2117–28. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1504720>
- Neal B, Perkovic V, Mahaffey KW, et al. Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2017; 377(7): 644–57. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1611925>
- Wiviott SD, Raz I, Bonaca MP, et al. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2019; 380(4): 347–57. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1812389>
- Nassif ME, Windsor SL, Tang F, et al. Dapagliflozin Effects on Biomarkers, Symptoms, and Functional Status in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: The DEFINE-HF Trial. *Circulation* 2019; 140(18): 1463–76. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.119.042929>
- McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE, et al. Dapagliflozin in Patients with Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. *N Engl J Med* 2019; 381(21): 1995–2008. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1911303>
- Packer M, Anker SD, Butler J, et al. Cardiovascular and Renal Outcomes with Empagliflozin in Heart Failure. *N Engl J Med* 2020. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2022190>
- Zelniker TA, Braunwald E. Cardiac and Renal Effects of Sodium-Glucose Co-Transporter 2 Inhibitors in Diabetes: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.06.040>
- Bell RM, Yellon DM. SGLT2 inhibitors: hypotheses on the mechanism of cardiovascular protection. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2018; 6(6): 435–7. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(17\)30314-5](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(17)30314-5)
- Packer M. Critical Examination of Mechanisms Underlying the Reduction in Heart Failure Events With SGLT2 Inhibitors: Identification of a Molecular Link Between Their Actions to Stimulate Erythrocytosis and to Alleviate Cellular Stress. *Cardiovasc Res* 2020. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa064>
- Zelniker TA, Braunwald E. Clinical Benefit of Cardiorenal Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol* 2020; 75(4): 435–47. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.11.036>
- Zelniker TA, Braunwald E. Mechanisms of Cardiorenal Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol* 2020; 75(4): 422–34. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.11.031>
- Packer M. Lessons learned from the DAPA-HF trial concerning the mechanisms of benefit of SGLT2 inhibitors on heart failure events in the context of other large-scale trials nearing completion. *Cardiovasc Diabetol* 2019; 18(1): 129. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0938-6>
- Packer M. SGLT2 Inhibitors Produce Cardiorenal Benefits by Promoting Adaptive Cellular Reprogramming to Induce a State of Fasting Mimicry: A Paradigm Shift in Understanding Their Mechanism of Action. *Diabetes Care* 2020; 43(3): 508–11. <https://doi.org/10.2337/dci19-0074>
- Zhou L, Cryan EV, D'Andrea MR, et al. Human cardiomyocytes express high level of Na⁺/glucose cotransporter 1 (SGLT1). *J Cell Biochem* 2003; 90(2): 339–46. <https://doi.org/10.1002/jcb.10631>

15. Chen J, Williams S, Ho S, et al. Quantitative PCR tissue expression profiling of the human SGLT2 gene and related family members. *Diabetes Ther* 2010; 1(2): 57–92. <https://doi.org/10.1007/s13300-010-0006-4>
16. Di Franco A, Cantini G, Tani A, et al. Sodium-dependent glucose transporters (SGLT) in human ischemic heart: A new potential pharmacological target. *Int J Cardiol* 2017; 243: 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.05.032>
17. von Lewinski D, Gasser R, Rainer PP, et al. Functional effects of glucose transporters in human ventricular myocardium. *Eur J Heart Fail* 2010; 12(2): 106–13. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfp191>
18. Banerjee SK, McGaffin KR, Pastor-Soler NM, Ahmad F. SGLT1 is a novel cardiac glucose transporter that is perturbed in disease states. *Cardiovasc Res* 2009; 84(1): 111–8. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp190>
19. Kashiwagi Y, Nagoshi T, Yoshino T, et al. Expression of SGLT1 in Human Hearts and Impairment of Cardiac Glucose Uptake by Phlorizin during Ischemia-Reperfusion Injury in Mice. *PLoS One* 2015; 10(6): e0130605. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130605>
20. Ramratnam M, Sharma RK, D'Auria S, et al. Transgenic knock-down of cardiac sodium/glucose cotransporter 1 (SGLT1) attenuates PRKAG2 cardiomyopathy, whereas transgenic overexpression of cardiac SGLT1 causes pathologic hypertrophy and dysfunction in mice. *J Am Heart Assoc* 2014; 3(4). <https://doi.org/10.1161/jaha.114.000899>
21. Yoshii A, Nagoshi T, Kashiwagi Y, et al. Cardiac ischemia-reperfusion injury under insulin-resistant conditions: SGLT1 but not SGLT2 plays a compensatory protective role in diet-induced obesity. *Cardiovasc Diabetol* 2019; 18(1): 85. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0889-y>
22. Szablewski L. Glucose transporters in healthy heart and in cardiac disease. *Int J Cardiol* 2017; 230: 70–5. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.12.083>
23. Vrhovac I, Balen Eror D, Klessen D, et al. Localizations of Na(+)-D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 in human kidney and of SGLT1 in human small intestine, liver, lung, and heart. *Pflugers Arch* 2015; 467(9): 1881–98. <https://doi.org/10.1007/s00424-014-1619-7>
24. Lambert R, Srodulski S, Peng X, et al. Intracellular Na+ Concentration ([Na⁺]_i) Is Elevated in Diabetic Hearts Due to Enhanced Na⁺-Glucose Cotransport. *J Am Heart Assoc* 2015; 4(9): e002183. <https://doi.org/10.1161/jaha.115.002183>
25. Polidori D, Sha S, Mudaliar S, et al. Canagliflozin lowers post-prandial glucose and insulin by delaying intestinal glucose absorption in addition to increasing urinary glucose excretion: results of a randomized, placebo-controlled study. *Diabetes Care* 2013; 36(8): 2154–61. <https://doi.org/10.2337/dc12-2391>
26. Ohgaki R, Wei L, Yamada K, et al. Interaction of the Sodium/Glucose Cotransporter (SGLT) 2 inhibitor Canagliflozin with SGLT1 and SGLT2. *J Pharmacol Exp Ther* 2016; 358(1): 94–102. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.232025>
27. Cefalo CMA, Cinti F, Moffa S, et al. Sotagliflozin, the first dual SGLT inhibitor: current outlook and perspectives. *Cardiovasc Diabetol* 2019; 18(1): 20. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0828-y>
28. Seidemann SB, Feofanova E, Yu B, et al. Genetic Variants in SGLT1, Glucose Tolerance, and Cardiometabolic Risk. *J Am Coll Cardiol* 2018; 72(15): 1763–73. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.07.061>
29. Bhatt DL, Szarek M, Pitt B, et al. Sotagliflozin in Patients with Diabetes and Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med* 2021; 384(2): 129–39. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2030186>
30. Bhatt DL, Szarek M, Steg PG, et al. Sotagliflozin in Patients with Diabetes and Recent Worsening Heart Failure. *N Engl J Med* 2021; 384(2): 117–28. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2030183>
31. Bertrand L, Auquier J, Renguet E, et al. Glucose transporters in cardiovascular system in health and disease. *Pflugers Arch* 2020; 472(9): 1385–99. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02444-8>
32. Zelniker TA, Wiviott SD, Raz I, et al. SGLT2 inhibitors for primary and secondary prevention of cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. *Lancet* 2019; 393(10166): 31–9. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)32590-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32590-x)
33. Chin KL, Ofori-Asenso R, Hopper I, et al. Potential mechanisms underlying the cardiovascular benefits of sodium glucose cotransporter 2 inhibitors: a systematic review of data from preclinical studies. *Cardiovasc Res* 2019; 115(2): 266–76. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy295>
34. Uthman L, Baartscheer A, Schumacher CA, et al. Direct Cardiac Actions of Sodium Glucose Cotransporter 2 Inhibitors Target Pathogenic Mechanisms Underlying Heart Failure in Diabetic Patients. *Front Physiol* 2018; 9: 1575. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01575>
35. Li Z, Agrawal V, Ramratnam M, et al. Cardiac sodium-dependent glucose cotransporter 1 is a novel mediator of ischaemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2019; 115(11): 1646–58. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz037>
36. Sawa Y, Saito M, Ishida N, et al. Pretreatment with KGA-2727, a selective SGLT1 inhibitor, is protective against myocardial infarction-induced ventricular remodeling and heart failure in mice. *J Pharmacol Sci* 2020; 142(1): 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.jpshs.2019.11.001>
37. Connelly KA, Zhang Y, Desjardins JF, Thai K, Gilbert RE. Dual inhibition of sodium-glucose linked cotransporters 1 and 2 exacerbates cardiac dysfunction following experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Diabetol* 2018; 17(1): 99. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0741-9>
38. Lee TM, Chang NC, Lin SZ. Dapagliflozin, a selective SGLT2 inhibitor, attenuated cardiac fibrosis by regulating the macrophage polarization via STAT3 signaling in infarcted rat hearts. *Free Radic Biol Med* 2017; 104: 298–310. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.01.035>
39. Nespoux J, Patel R, Hudkins KL, et al. Gene deletion of the Na(+)-glucose cotransporter SGLT1 ameliorates kidney recovery in a murine model of acute kidney injury induced by ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Renal Physiol* 2019; 316(6): F1201–F10. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00111.2019>
40. Baiteau M, Tajeddine N, de Meester C, et al. NADPH oxidase activation by hyperglycaemia in cardiomyocytes is independent of glucose metabolism but requires SGLT1. *Cardiovasc Res* 2011; 92(2): 237–46. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr230>
41. Meng L, Uzui H, Guo H, Tada H. Role of SGLT1 in high glucose level-induced MMP-2 expression in human cardiac fibroblasts. *Mol Med Rep* 2018; 17(5): 6887–92. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8688>
42. Li XM, Ma YT, Yang YN, et al. Downregulation of survival signalling pathways and increased apoptosis in the transition of pressure overload-induced cardiac hypertrophy to heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009; 36(11): 1054–61. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2009.05243.x>
43. Gonzalez A, Ravassa S, Loperena I, et al. Association of depressed cardiac gp130-mediated antiapoptotic pathways with stimulated cardiomyocyte apoptosis in hypertensive patients with heart failure. *J Hypertens* 2007; 25(10): 2148–57. <https://doi.org/10.1097/hjh.0b013e32828626e2>
44. Matsushita N, Ishida N, Ibi M, et al. Chronic Pressure Overload Induces Cardiac Hypertrophy and Fibrosis via Increases in SGLT1 and IL-18 Gene Expression in Mice. *Int Heart J* 2018; 59(5): 1123–33. <https://doi.org/10.1536/ihj.17-565>
45. Jae Han H, Yeong Park J, Jung Lee Y, Taub M. Epidermal growth factor inhibits 14C-alpha-methyl-D-glucopyranoside uptake in renal proximal tubule cells: involvement of PLC/PKC, p44/42 MAPK, and cPLA2. *J Cell Physiol* 2004; 199(2): 206–16. <https://doi.org/10.1002/jcp.10438>
46. Han HJ, Park SH, Lee YJ. Signaling cascade of ANG II-induced inhibition of alpha-MG uptake in renal proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286(4): F634–42. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00217.2003>
47. Lee YJ, Lee YJ, Han HJ. Regulatory mechanisms of Na(+)/glucose cotransporters in renal proximal tubule cells. *Kidney Int Suppl* 2007(106): S27–35. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002383>
48. Vanderheyden M, Mullens W, Delrue L, et al. Myocardial gene expression in heart failure patients treated with cardiac resynchronization therapy responders versus nonresponders. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(2): 129–36. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.07.087>
49. Liao R, Jain M, Cui L, D'Agostino J, et al. Cardiac-specific overexpression of GLUT1 prevents the development of heart failure attributable to pressure overload in mice. *Circulation* 2002; 106(16): 2125–31. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000034049.61181.f3>