

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.001

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.001>

· 论著 ·

## 右美托咪定通过调控 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路对 糖尿病肾病大鼠肾损伤的保护作用

杨燕, 涂立刚, 彭志宏

(信阳市中心医院麻醉科, 河南 信阳 464000)

**[摘要]** 目的: 探究右美托咪定(dexmedetomidine, DEX)对糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)大鼠肾损伤的作用及其机制。方法: 将50只大鼠随机分为对照组(Control, Ctrl)组、链尿佐菌素(Streptozotocin, STZ)组、罗格列酮(rosiglitazone, Rosi)组、DEX 25  $\mu$ g/kg组和DEX 50  $\mu$ g/kg组。除Ctrl组外, 其余组大鼠腹腔注射STZ, 造模成功后DEX(25, 50  $\mu$ g/kg)组大鼠腹腔注射DEX, Rosi组给予10 mg/kg的Rosi, 7 d后进行检测。采用HE染色检测肾损伤, TUNEL检测细胞凋亡, 试剂盒检测血清肌酐(serum creatinine, SCr)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿白蛋白及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的浓度, Western印迹检测Ki-67, cleaved Caspase-3, 转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1), 磷酸化-Smad2(phosphorylated-Smad2, p-Smad2)和p-Smad3的表达。结果: DEX和Rosi能显著减轻模型大鼠肾损伤, 降低SCr, BUN和SOD的浓度, 并以高浓度作用显著; DEX和Rosi还能显著减少肾组织细胞凋亡及cleaved Caspase-3的表达水平、诱导Ki-67的表达; 同时, DEX及Rosi能升高模型大鼠血清SOD和GSH-Px的浓度, 降低MDA的浓度; 此外, DEX及Rosi能抑制TGF- $\beta$ 1, p-Smad2和p-Smad3表达, 并有量效关系。结论: DEX能通过抑制TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路的激活减轻DN大鼠的肾损伤。

**[关键词]** 右美托咪定; 糖尿病肾病; 氧化应激; TGF- $\beta$ 1; Smad

## Protective effect of dexmedetomidine on renal injury in diabetic nephropathy rats by regulating TGF- $\beta$ I/Smad signaling pathway

YANG Yan, TU Ligang, PENG Zhihong

(Department of Anesthesiology, Xinyang Central Hospital, Xinyang Henan 464000, China)

**Abstract Objective:** To investigate the effects and mechanism of dexmedetomidine (DEX) on renal injury of

收稿日期 (Date of reception): 2018-07-06

通信作者 (Corresponding author): 杨燕, Email: yourongli\_83@163.com

基金项目 (Foundation item): 河南省科技攻关项目 (142102310246)。This work was supported by Henan Science and Technology Tackling Key Project Foundation, China (142102310246).

diabetic nephropathy rats. **Methods:** A total of 50 rats were divided into Control group (Ctrl) group, Streptozotocin (STZ) group, rosiglitazone (Rosi) group, dexmedetomidine (DEX, 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) group and DEX (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) group. Rats were injected with STZ intraperitoneally except rats in the Ctrl group. After model was established successfully, rats in DEX (25, 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) groups were injected with DEX intraperitoneally, and rats in the Rosi group were treated with Rosi (10 mg/kg) for 7 d. The renal injury was determined by HE staining, TUNEL assay was performed for cell apoptosis, the concentrations of serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), urea protein, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) also were measured. The protein levels of Ki-67, cleaved Caspase-3, transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), phosphorylated-Smad2 (p-Smad2) and p-Smad3 were determined by Western blot. **Results:** In model rats, the renal injury was alleviated by DEX and Rosi, and the concentration of SCr, BUN and SOD also were down-regulated by DEX and Rosi, especially high-dose. DEX and Rosi ameliorated cell apoptosis and the expression of cleaved Caspase-3, induced the expression of Ki-67. Meanwhile, DEX and Rosi up-regulated the concentrations of SOD and GSH-Px, but decreased the concentration of MDA. In addition, pretreatment of DEX inhibited the expression of TGF- $\beta$ 1, p-Smad2 and p-Smad3 in a dose-dependent manner. **Conclusion:** DEX can attenuates renal injury of DN rats through TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway.

**Keywords** dexmedetomidine; diabetic nephropathy; oxidative stress; TGF- $\beta$ 1; Smad

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最常见的并发症之一,也是导致肾衰竭的主要原因<sup>[1]</sup>。随着现代人们生活水平的提高, DN的发病率呈逐年上升的趋势。DN临床病理变化主要包括肾小球基底膜增厚及进行性的蛋白尿<sup>[2]</sup>。高血糖是导致糖尿病患者肾损伤的主要原因,不仅能诱导自由基的大量产生,还能通过促进抗氧化酶糖基化减弱机体的抗氧化能力,最终导致肾的严重损伤,甚至是肾衰竭<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4]</sup>表明:转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)/Smad信号通路激活是DN发展的主要机制,活性氧的大量产生可导致TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路的激活,从而促进糖基化终末产物的形成,导致肾损伤。因此有效抑制氧化应激将有利于DN的治疗。右美托咪定(dexmedetomidine, DEX)是一类肾上腺素受体激动剂,是临床常用的麻醉辅助用药。研究<sup>[5-6]</sup>表明:DEX对糖尿病模型大鼠具有明显的保护作用,能通过抑制氧化应激和炎症反应减轻糖尿病模型大鼠脑缺血再灌注损伤;且DEX对糖尿病模型大鼠肺损伤也具有明显的保护作用。但对DN的作用还未见报道。因此,本研究采用链尿佐菌素(Streptozotocin, STZ)建立大鼠DN模型,以探究DEX对DN的作用及其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

DEX和罗格列酮(rosiglitazone, Rosi)组购

自江都恩华药业, STZ购自美国Sigma-Aldrich公司。HE染色试剂盒、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒和放射免疫沉淀测定(radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液购自北京索莱宝生物公司。TUNEL试剂盒购自美国Thermo Fisher公司,血清肌酐(serum creatinine, SCr)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿蛋白试剂盒购自上海酶联生物科技公司,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒及肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )和IL-6 ELISA试剂盒购自南京建成生物工程研究所。Ki-67, cleaved Caspase-3, TGF- $\beta$ 1, Smad2和Smad3一抗均购自英国Abcam公司,实验所用二抗均购自北京中杉生物公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物模型复制及给药

50只280~320 g的SPF级的雄性SD大鼠购自成都达硕实验动物有限公司[批号:SCXK(川)2013-24]。所有大鼠给予正常饲料喂养,自由进食,购回后适应性喂养3 d后进行实验。将大鼠随机分为对照(Control, Ctrl)组、STZ组、Rosi组、DEX(25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )组和DEX(50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )组。参照文献<sup>[7]</sup>所述的方法,除Ctrl组外,其余组大鼠用高脂

饲料喂养, 并腹腔注射STZ(50 mg/kg), 3 d后血糖大于300 mg/dL的视为造模成功。随后DEX(25, 50  $\mu$ g/kg)组大鼠腹腔注射相应浓度的DEX, Rosi组给予10 mg/kg的Rosi, 7 d后腹腔注射过量10%的水合氯醛麻醉处死大鼠, 收集尿液, 取外周血和肾组织进行检测。

### 1.2.2 样品制备

将获得的全血于室温静置2 h后, 以3 000 r/min于4  $^{\circ}$ C离心15 min, 离心2次后取上层血清, 每个样本分装为2份, 保存于-20  $^{\circ}$ C冰箱中备用。取肾组织, 分离皮质和髓质, 在肾上极或下极取少量肾皮质固定于4%中性甲醛溶液中过夜。第2天将肾皮质用浓度梯度的蔗糖脱水后用石蜡包埋, 制作5  $\mu$ m的石蜡切片备用。

### 1.2.3 试剂盒检测肾生化指标

取1份血清置于4  $^{\circ}$ C复融, 复融后将血清置于室温下平衡30 min, 根据SCr, BUN试剂盒说明书测定两者浓度, 并检测尿白蛋白浓度。

### 1.2.4 HE 染色检测肾损伤情况

取石蜡切片, 用二甲苯进行脱蜡处理后, 根据HE染色试剂盒说明书对切片进行染色处理, 生物显微镜下观察肾组织的损伤情况。

### 1.2.5 TUNEL 染色检测肾组织细胞凋亡

用二甲苯和浓度梯度的酒精对切片进行脱蜡和水化处理, 将切片采用3%过氧化氢甲醇溶液处理, 随后滴加TdT酶反应液, 于湿盒中37  $^{\circ}$ C孵育1 h后用终止液终止反应, 用磷酸盐缓冲液清洗4次, 滴加二氨基联苯胺(DAB)染色液显色5 min, 最后用二甲苯脱水3次, 干燥后封片, 观察细胞凋亡情况。

### 1.2.6 试剂盒检测氧化应激及炎症指标

取血清并将血清置于4  $^{\circ}$ C复融, 复融后将血清置于室温下平衡30 min, 根据试剂盒说明书测定血清SOD, GSH-Px, MDA, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 和IL-6的浓度。

### 1.2.7 Western 印迹检测蛋白表达

用RIPA裂解液提取各组大鼠组织蛋白, 用BCA试剂盒测定蛋白浓度并调平。每组分别取20  $\mu$ g的蛋白质用10% SDS-PAGE分离蛋白, 用转膜仪将蛋白质转移到聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上, 用5%的脱脂牛奶室温封闭蛋白质2 h, 随后加入适宜浓度的一抗(Ki-67, 1:1 000; cleaved Caspase-3, 1:900; TGF- $\beta$ 1, 1:1 100; p-Smad2, 1:1 000; p-Smad3, 1:900), 于4  $^{\circ}$ C封闭过夜。第2天洗去未结合一抗, 加入二抗

于室温孵育1 h。最后滴加ECL显色液于暗室曝光显影。

## 1.3 统计学处理

采用SPSS 16.0统计软件进行数据分析, 实验结果均以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。组间差异采用单因素方差分析或者秩和检验进行分析。

## 2 结果

### 2.1 DEX 对 DN 大鼠肾功能的影响

如图1所示, 与Ctrl组[(1.4 $\pm$ 0.2) g]比较, STZ组[(2.8 $\pm$ 0.3) g]大鼠的肾重量明显增加( $P<0.001$ ), Rosi[(2.0 $\pm$ 0.3) g]能显著降低模型大鼠肾重量, DEX(25, 50  $\mu$ g/kg)也能显著降低模型大鼠的肾重量( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。同时, 与Ctrl组[(7.2 $\pm$ 2.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ , (6.5 $\pm$ 2.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ , (32.6 $\pm$ 5.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ ]比较, STZ组大鼠尿白蛋白[(38.2 $\pm$ 3.0) mg $\cdot$ L $^{-1}$ ]、BUN[(24.8 $\pm$ 3.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ ]和SCr[(98.6 $\pm$ 9.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ ]的浓度均明显升高( $P<0.001$ ), 提示造模成功。与STZ组比较, Rosi组[(15.3 $\pm$ 3.0) mg $\cdot$ L $^{-1}$ , (13.5 $\pm$ 2.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ , (46.3 $\pm$ 6.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ ]、DEX(25  $\mu$ g/kg)组[(24.1 $\pm$ 4.0) mg $\cdot$ L $^{-1}$ , (16.8 $\pm$ 2.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ , (68.6 $\pm$ 7.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ ]和DEX(50  $\mu$ g/kg)组[(13.4 $\pm$ 2.0) mg $\cdot$ L $^{-1}$ , (12.3 $\pm$ 1.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ , (42.9 $\pm$ 5.0) mmol $\cdot$ L $^{-1}$ ]模型大鼠白蛋白、BUN和SCr的浓度均显著降低( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ), 差异有统计学意义; 且DEX(50  $\mu$ g/kg)的作用强于DEX(25  $\mu$ g/kg), 表明DEX能增强糖尿病大鼠的肾功能。

### 2.2 DEX 对 DN 大鼠肾损伤的影响

与Ctrl组比较, STZ组大鼠肾小球系膜基质明显增多( $P<0.001$ , 图2), 肾小球内细胞也明显增多( $P<0.001$ ); 与STZ组比较, DEX(25  $\mu$ g/kg)组肾小球系膜基质及肾小球内细胞有所减少( $P<0.001$ ), Rosi组和DEX(50  $\mu$ g/kg)组大鼠肾小球系膜基质及肾小球内细胞均明显减少( $P<0.001$ ), 表明DEX能减轻STZ诱导的DN肾病大鼠肾损伤。

### 2.3 DEX 对 DN 大鼠肾组织细胞凋亡的影响

与Ctrl组[(5.6 $\pm$ 3.0)%, (0.11 $\pm$ 0.03)%, (0.48 $\pm$ 0.05)%]比较, STZ组[(63.1 $\pm$ 7.0)%, (0.62 $\pm$ 0.06)%, (0.13 $\pm$ 0.02)%]大鼠肾组织细胞凋亡率和cleaved Caspase-3表达水平明显升高

( $P < 0.001$ ; 图3, 4), Ki-67表达水平明显降低( $P < 0.001$ , 图4), 差异具有统计学意义; 与STZ组比较, Rosi组[(28.6±3.0)%, (0.25±0.04)%, (0.44±0.05)%]细胞凋亡率及cleaved Caspase-3表达水平显著降低( $P < 0.001$ ), Ki-67表达水平明显升高, DEX(25 μg/kg)组(34.2±5.0)%, (0.38±0.05)%, (0.26±0.04)%和DEX(50 μg/kg)组[(19.3±3.0)%, (0.21±0.03)%, (0.43±0.04)%]细胞凋亡率及cleaved Caspase-3表达水平也明显降低( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ; 图3, 4), Ki-67表达水平明显升高( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ; 图4), 并以DEX浓度为50 μg/kg时作用最强, 表明DEX能抑制DN大鼠肾细胞凋亡, 促进肾细胞存活, 从而减轻DN肾损伤。

## 2.4 DEX对DN大鼠氧化应激的影响

与Ctrl组[(42.3±5.0) U·L<sup>-1</sup>, (62.0±7.0) U·L<sup>-1</sup>, (3.8±0.6) mg·L<sup>-1</sup>]比较, STZ组[(16.4±3.0) U·L<sup>-1</sup>, (28.0±4.0) U·L<sup>-1</sup>, (14.6±0.9) mg·L<sup>-1</sup>]大鼠血清抗氧化酶SOD和GSH-Px的浓度明显降低, 脂质过氧化产物MDA的浓度明显升高( $P < 0.001$ , 图5); 与STZ组比较, Rosi组[(31.2±4.5) U·L<sup>-1</sup>, (51.2±6.0) U·L<sup>-1</sup>, (6.6±0.7) mg·L<sup>-1</sup>]、DEX(25 μg/kg)组[(24.5±4.0) U·L<sup>-1</sup>, (39±5.0) U·L<sup>-1</sup>, (9.1±0.8) mg·L<sup>-1</sup>]和DEX(50 μg/kg)组[(29.6±3.0) U·L<sup>-1</sup>, (52.0±6.0) U·L<sup>-1</sup>, (6.3±0.7) mg·L<sup>-1</sup>]模型大鼠SOD和GSH-Px浓度显著升高, MDA浓度显著降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ; 图5), 差异具有统计学意义。表明DEX能减轻DN大鼠肾组织氧化应激。

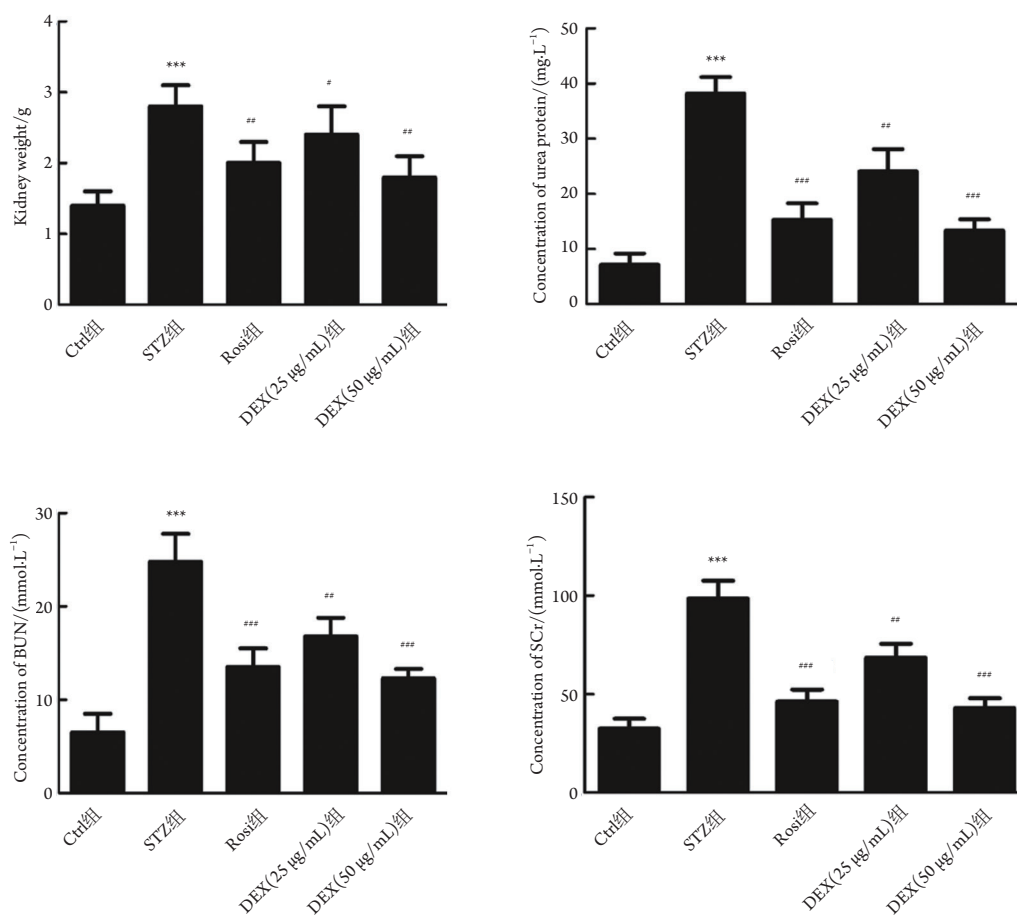


图1 DEX对DN大鼠肾重量、白蛋白、BUN和SCr浓度的影响( $n=8$ )

Figure 1 Effects of DEX on kidney weight, urea protein, BUN and SCr ( $n=8$ )

与Ctrl组相比, \*\*\* $P < 0.001$ ; 与STZ组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

\*\*\* $P < 0.001$  vs Ctrl group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs STZ group.

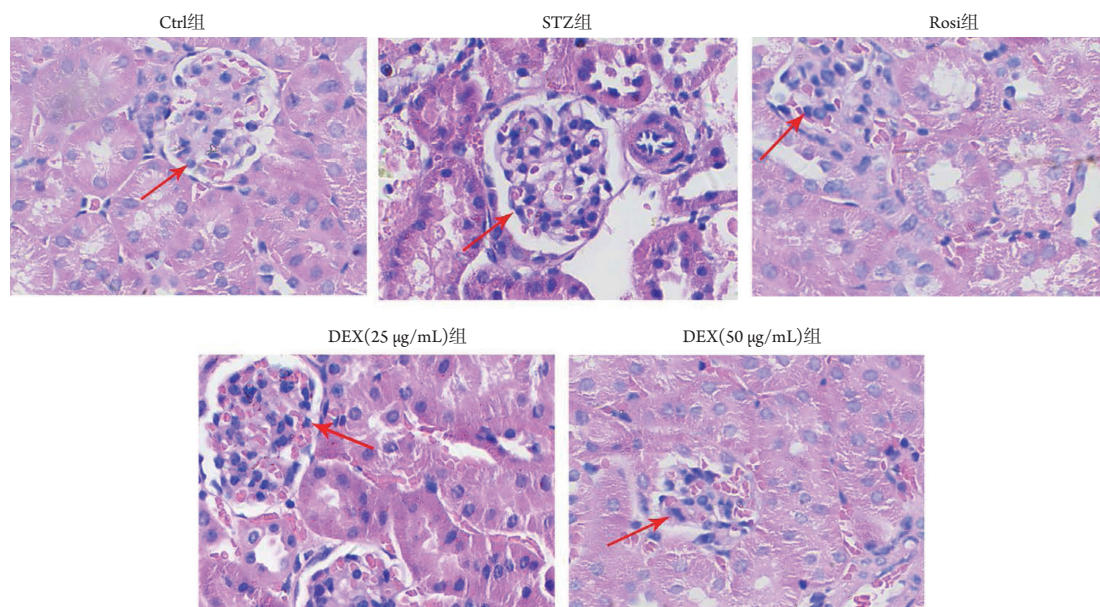


图2 DEX对DN大鼠肾病理损伤的影响, 箭头示肾小球的病理变化(HE, ×200)

Figure 2 Effect of DEX on renal lesion of DN rats, and the arrows showed the pathological changes of the glomeruli (HE, ×200)

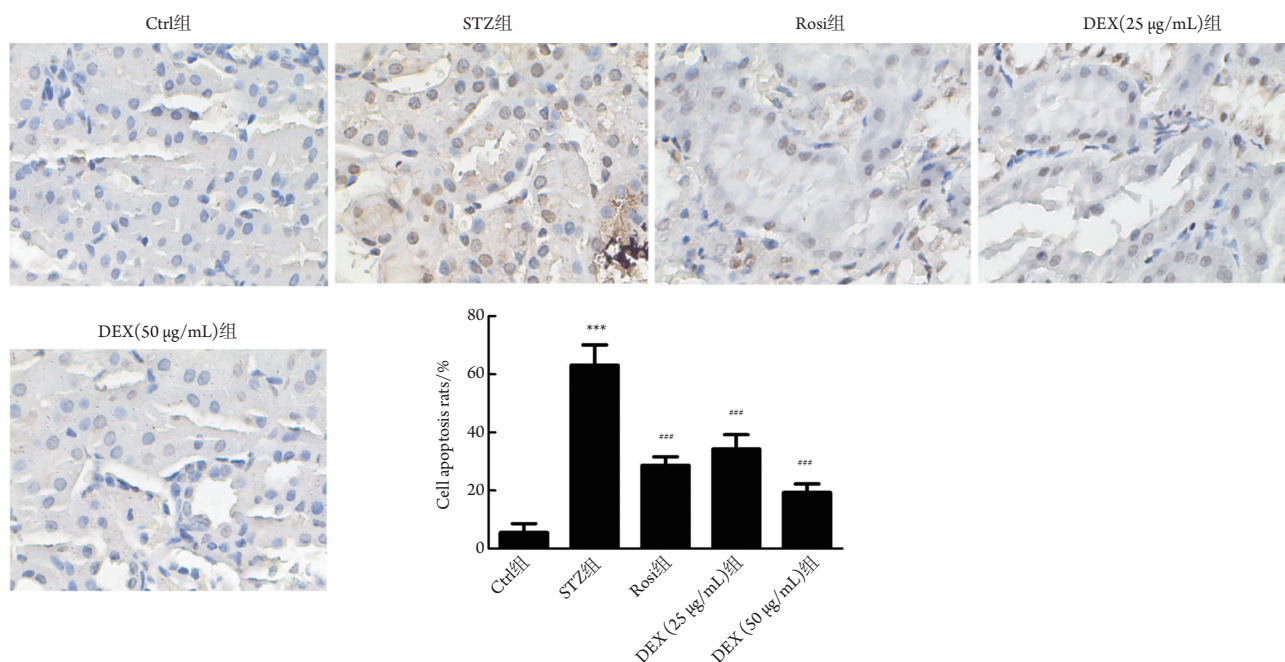


图3 DEX对DN大鼠肾细胞凋亡的影响(TUNEL染色, ×200)

Figure 3 Effect of DEX on renal cell apoptosis of DN rats (TUNEL staining, ×200)

与Ctrl组相比,  $***P < 0.001$ ; 与STZ组相比,  $***P < 0.001$ 。

$***P < 0.001$  vs Ctrl group;  $***P < 0.001$  vs STZ group.

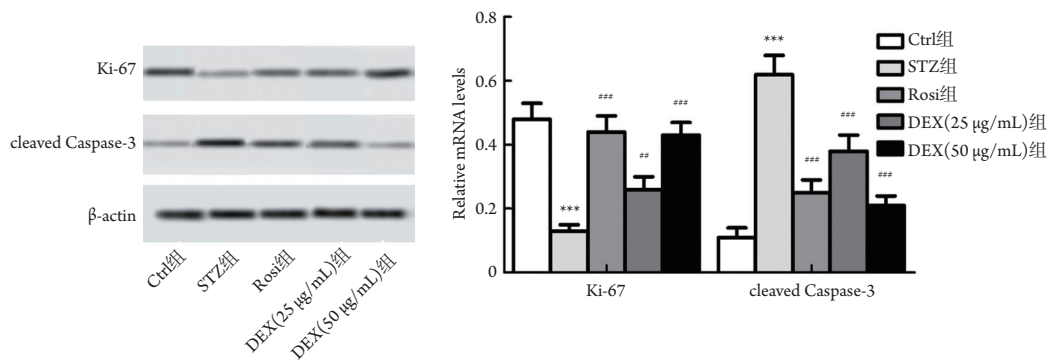


图4 DEX对DN大鼠肾组织Ki-67和cleaved Caspase-3表达的影响

Figure 4 Effects of DEX on the expressions of Ki-67 and cleaved Caspase-3 in renal tissue of DN rats

与Ctrl组相比, \*\*\* $P < 0.001$ ; 与STZ组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

\*\*\* $P < 0.001$  vs Ctrl group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs STZ group.

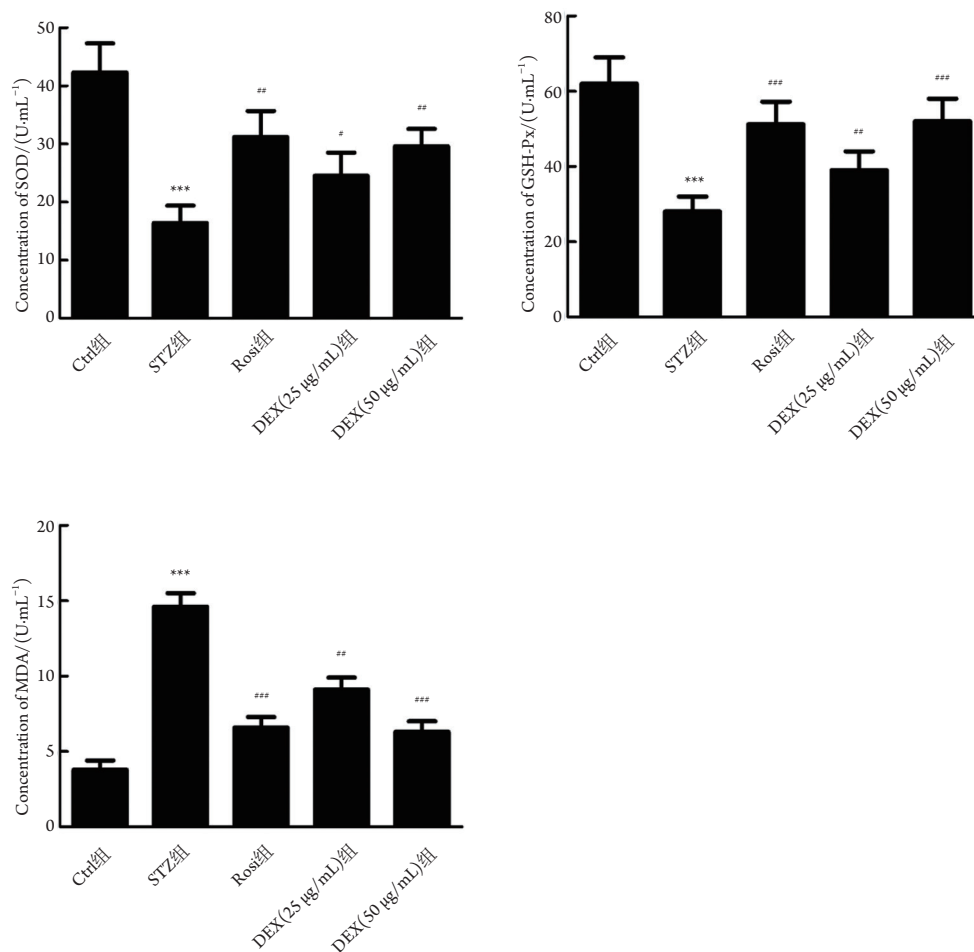


图5 DEX对DN大鼠血清SOD, GSH-Px和MDA浓度的影响

Figure 5 Effects of DEX on the concentrations of SOD, GSH-Px and MDA of DN rats

与Ctrl组相比, \*\*\* $P < 0.001$ ; 与STZ组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

\*\*\* $P < 0.001$  vs Ctrl group; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs STZ group.

## 2.5 DEX 对 DN 大鼠炎症反应的影响

如图6所示, STZ组( $253.0 \pm 220$ ,  $97.0 \pm 10.0$ ,  $102.0 \pm 11.0$ )大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6的浓度与Ctrl组[( $76.0 \pm 11.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $32.0 \pm 5.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $53.0 \pm 6.0$ ) pg.mL $^{-1}$ ]比较明显升高( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ; 图6), Rosi组[( $123.0 \pm 14.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $62.0 \pm 8.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $61.0 \pm 7.0$ ) pg.mL $^{-1}$ 、DEX(25  $\mu$ g/kg)组[( $186.0 \pm 19.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $78.0 \pm 9.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $74.0 \pm 8.0$ ) pg.mL $^{-1}$ ]和DEX(50  $\mu$ g/kg)组[( $141.0 \pm 15.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $56.0 \pm 6.0$ ) pg.mL $^{-1}$ , ( $63.0 \pm 6.0$ ) pg.mL $^{-1}$ ]模型大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6浓度显著低于STZ组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ; 图6), 表明DEX能抑制DN大鼠的炎

症反应。

## 2.6 DEX 对 DN 大鼠 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的影响

Western印迹实验结果表明: STZ能显著促进大鼠肾组织TGF- $\beta$ 1, p-Smad2和p-Smad3的表达( $P < 0.001$ , 图7;  $1.43 \pm 0.11$ ,  $1.02 \pm 0.12$ ,  $1.34 \pm 0.14$ ); Rosi( $42.3 \pm 5.0$ ,  $62.0 \pm 7.0$ ,  $3.8 \pm 0.6$ ), DEX(25 mg/kg;  $0.92 \pm 0.11$ ,  $0.73 \pm 0.09$ ,  $0.86 \pm 0.10$ )和DEX(50 mg/kg;  $0.64 \pm 0.08$ ,  $0.45 \pm 0.06$ ,  $0.54 \pm 0.07$ )均能显著降低STZ处理后大鼠肾组织TGF- $\beta$ 1, p-Smad2和p-Smad3的蛋白表达水平( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ; 图7), 表明DEX能抑制TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路激活。

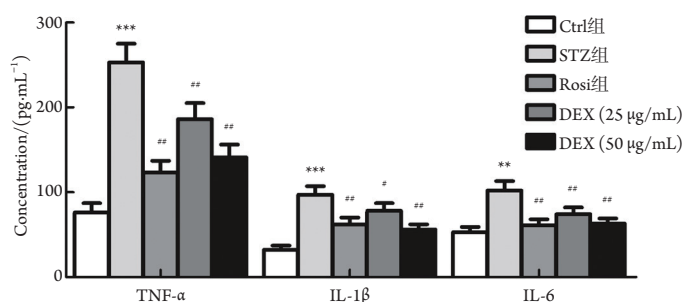


图6 DEX对TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6浓度的影响

Figure 6 Effects of DEX on the concentrations of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6

与Ctrl组相比,  $***P < 0.001$ ; 与STZ组相比,  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ 。

$***P < 0.001$  vs Ctrl group;  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ , vs STZ group.

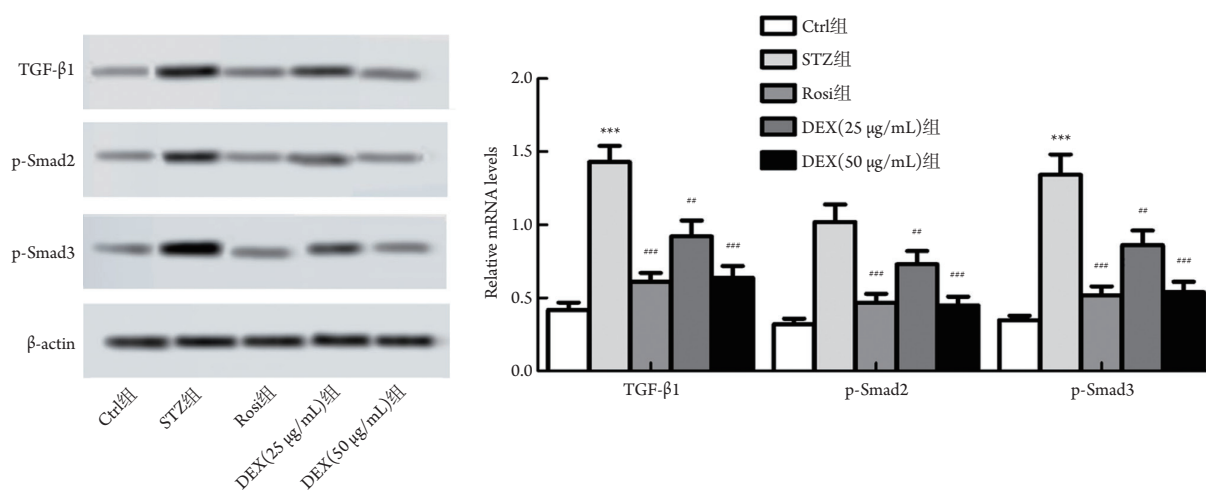


图7 DEX对DN大鼠肾组织TGF- $\beta$ 1, p-Smad2和p-Smad3表达的影响

Figure 7 Effects of DEX on the expressions of TGF- $\beta$ 1, p-Smad2 and p-Smad3 in renal tissue of DN rats

与Ctrl组相比,  $***P < 0.001$ ; 与STZ组相比,  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ 。

$***P < 0.001$  vs Ctrl group;  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$  vs STZ group.

### 3 讨论

现代研究<sup>[8]</sup>表明: 临床常用麻醉辅助用药 DEX 具有抗癌、抗炎、抗氧化及调控血流等药理学作用。Yeda 等<sup>[9]</sup>研究表明: DEX 能通过调控 p38 MAPK/TXNIP 信号通路抑制炎症因子的释放及氧化应激, 减少神经细胞凋亡, 减轻 STZ 诱导的糖尿病模型大鼠脑缺血再灌注损伤。同时, DEX 还能减轻糖尿病模型大鼠肺再灌注损伤, 作用机制也与抗氧化损伤有关<sup>[6]</sup>。Lempiäinen 等<sup>[10]</sup>的研究表明提前给予 DEX 预处理能减弱肾缺血再灌注损伤大鼠的炎症反应。但对于 DEX 对 DN 的作用机制还较少见报道。本研究采用腹腔注射 STZ 的方法建立 DN 模型。STZ 是从链霉菌属中提取的一类葡萄糖胺衍生物, 能破坏 DNA 链、促进二磷酸核糖的合成酶活性, 从而诱导胰岛  $\beta$  细胞死亡<sup>[4]</sup>。此过程类似于 2 型糖尿病的发病机制, 因此被广泛应用于糖尿病模型的复制。STZ 诱导的糖尿病发病迅速、高血糖稳定, 能在短时间内诱导肾功能出现损伤及肾组织纤维化等病理改变<sup>[11]</sup>。

本研究一次性腹腔注射 STZ, 1 周后发现, 大鼠肾重量明显增加, 并出现了典型的肾纤维化特征, 如肾小球系膜增厚、肾小球内细胞增多。同时, 模型大鼠 BUN, SCr 及尿蛋白的浓度均出现不同程度地降低。此外, STZ 还能显著增加大鼠肾细胞凋亡率及凋亡相关蛋白 cleaved Caspase-3 的表达水平, 并抑制 Ki-67 的表达, 肾细胞是肾功能的基础, 表明肾出现了明显损伤, 造模成功。Rosi 和 DEX 均能显著降低模型大鼠 BUN, SCr 及尿蛋白的浓度, 并明显抑制肾细胞凋亡及 cleaved Caspase-3 的表达, 促进 Ki-67 表达, DEX (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 的作用与 Rosi 类似, 表明 DEX 能显著减轻 STZ 诱导的大鼠 DN 损伤。

高糖环境可诱导大量活性氧产生, 活性氧是导致糖尿病并发症的主要原因。活性氧主要通过氧化直接破坏细胞 DNA、蛋白质、脂质及糖类化合物, 从而导致糖尿病并发症的发生<sup>[12]</sup>。DN 是糖尿病主要并发症之一, 氧化应激在 STZ 诱导的 DN 过程中发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。氧化损伤主要是由抗氧化酶与氧化物之间的不平衡所导致, 大量的氧化物能显著减弱抗氧化酶的抗氧化效应。研究<sup>[13]</sup>发现: 在 DN 发展过程中, 抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 的含量明显减少, 脂质过氧化中间产物 MDA 浓度明显升高。本研究同样发现: STZ 能显著降低大鼠血清 SOD 和 GSH-Px 浓度, 升高 MDA 浓度。研究<sup>[9]</sup>表明: DEX 能减轻肾缺血再灌注损伤, 作用机制与抗

氧化损伤有关。本研究结果表明: DEX 能显著升高 DN 模型大鼠血清 SOD 和 GSH-Px 的浓度, 降低 MDA 浓度, 提示 DEX 能减轻 DN 大鼠氧化应激损伤。

炎症反应是 DN 发生发展的重要机制之一。研究<sup>[14]</sup>表明: 在糖尿病发生的早期会出现巨噬细胞的浸润, 巨噬细胞的激活与持续高血糖、肾小球免疫复合物沉积, 趋化因子生成及肾进行性纤维化有关。巨噬细胞可通过分泌活性氧 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等炎症因子造成肾细胞的损伤和死亡, 造成肾的正常生理功能障碍<sup>[15]</sup>。DEX 具有明确的抗炎活性, 能显著抑制缺血再灌注引起的肾炎症, 从而减轻肾损伤<sup>[16]</sup>。本研究结果表明: DEX 还能显著降低 DN 模型大鼠血清炎症因子 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  和 IL-6 浓度, 且高浓度的抑制作用强于低浓度, 提示 DEX 减轻肾损伤的作用与抑制肾炎症反应有关。

为进一步探究 DEX 减轻 DN 的作用机制, 本研究探讨了 DEX 对 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的作用。Smad2 和 Smad3 是 TGF- $\beta$ 1 的受体, TGF- $\beta$ 1 激活能促进 Smad2 和 Smad3 磷酸化, 随后转移至细胞核, 调控相关转录因子的表达<sup>[17]</sup>。近年来研究<sup>[18]</sup>表明 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路能通过调控肾炎症反应和氧化应激影响 DN 的发生发展。下调 TGF- $\beta$ 1 表达能减缓的肾纤维化发展<sup>[19]</sup>。可见抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的激活有利于 DN 的治疗。本研究结果表明: STZ 能显著促进大鼠肾组织 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的激活, DEX 能显著减弱 STZ 对 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的作用, 提示 DEX 能抑制 DN 模型大鼠肾组织 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的激活。

综上所述, DEX 能显著增强 DN 模型大鼠肾功能、抑制肾细胞凋亡并能减轻肾组织损伤; 同时, DEX 还能显著抑制 DN 模型大鼠氧化应激和炎症反应, 并显著抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路激活, 表明 DEX 能通过抑制氧化应激和炎症反应减轻 DN 模型大鼠肾损伤、增强肾功能, 其作用机制可能与抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路激活有关。本研究首次探究了 DEX 对 STZ 诱导的 DN 大鼠肾损伤的作用及作用机制, 可为 DEX 用于 DN 肾损伤的治疗提供新的理论支撑。

### 参考文献

1. Al-Rubeaan K, Youssef AM, Subhani SN, et al. Diabetic nephropathy and its risk factors in a society with a type 2 diabetes epidemic: a saudi national diabetes registry-based study[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e88956.



2. Yu R, Mao J, Yang Y, et al. Protective effects of calcitriol on diabetic nephropathy are mediated by down regulation of TGF- $\beta$ 1 and CIP4 in diabetic nephropathy rat[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(4): 3503-3512.
3. Pal PB, Sinha K, Sil PC. Mangiferin attenuates diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress mediated signaling cascade, TNF $\alpha$  related and mitochondrial dependent apoptotic pathways in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107220.
4. Kuo CW, Shen CJ, Tung YT, et al. Extracellular superoxide dismutase ameliorates streptozotocin-induced rat diabetic nephropathy via inhibiting the ROS/ERK1/2 signaling[J]. *Life Sci*, 2015, 135: 77-86.
5. Zeng X, Wang H, Xing X, et al. Dexmedetomidine protects against transient global cerebral ischemia/reperfusion induced oxidative stress and inflammation in diabetic rats[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151620.
6. Kip G, Çelik A, Bilge M, et al. Dexmedetomidine protects from post-myocardial ischaemia reperfusion lung damage in diabetic rats[J]. *Libyan J Med*, 2015, 10: 27828.
7. Zayed AE, Saleh A, Gomaa AMS, et al. Protective effect of ginkgo biloba and magnetized water on nephropathy in induced type 2 diabetes in rat[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 11: 1785614.
8. Gao S, Wang Y, Zhao J, et al. Effects of dexmedetomidine pretreatment on heme oxygenase-1 expression and oxidative stress during one-lung ventilation[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3): 3144-3149.
9. Yeda X, Shaoqing L, Yayi H, et al. Dexmedetomidine protects against renal ischemia and reperfusion injury by inhibiting the P38-MAPK/TXNIP signaling activation in streptozotocin induced diabetic rats[J]. *Acta Cir Bras*, 2017, 32(6): 429-439.
10. Lempiäinen J, Finckenberg P, Mervaala EE, et al. Dexmedetomidine preconditioning ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury[J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2014, 2(3): e00045.
11. Mao ZM, Shen SM, Wan YG, et al. Huangkui capsule attenuates renal fibrosis in diabetic nephropathy rats through regulating oxidative stress and p38MAPK/Akt pathways, compared to  $\alpha$ -lipoic acid[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 173: 256-265.
12. Avci E, Cakir E, Cevher SC, et al. Determination of oxidative stress and cellular inflammation in patients with diabetic nephropathy and non-diabetic nephropathy being administered hemodialysis treatment due to chronic renal failure[J]. *Ren Fail*, 2014, 36(5): 767-773.
13. Dabhi B, Mistry KN. Oxidative stress and its association with TNF- $\alpha$ -308 G/C and IL-1 $\alpha$ -889 C/T gene polymorphisms in patients with diabetes and diabetic nephropathy[J]. *Gene*, 2015, 562(2): 197-202.
14. Lu HJ, Tzeng TF, Liou SS, et al. Ruscogenin ameliorates diabetic nephropathy by its anti-inflammatory and anti-fibrotic effects in streptozotocin-induced diabetic rat[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14(1): 110.
15. Barutta F, Bruno G, Grimaldi S, et al. Inflammation in diabetic nephropathy: moving toward clinical biomarkers and targets for treatment[J]. *Endocrine*, 2015, 48(3): 730-742.
16. Liu G, Song H, Qiu L, et al. Dexmedetomidine preconditioning inhibits the long-term inflammation induced by renal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Acta Cir Bras*, 2016, 31(1): 8-14.
17. Yang J, Kan M, Wu GY. Bergenin ameliorates diabetic nephropathy in rats via suppressing renal inflammation and TGF- $\beta$ 1-Smads pathway[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2016, 38(2): 145-152.
18. Ma Z, Zhu L, Liu Y, et al. Lovastatin alleviates endothelial-to-mesenchymal transition in glomeruli via suppression of oxidative stress and TGF- $\beta$ 1 signaling[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 473.
19. Park SA, Kim MJ, Park SY, et al. EW-7197 inhibits hepatic, renal, and pulmonary fibrosis by blocking TGF- $\beta$ /Smad and ROS signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72(10): 2023-2039.

本文引用: 杨燕, 涂立刚, 彭志宏. 右美托咪定通过调控TGF- $\beta$ 1/Smad通路对糖尿病肾病大鼠肾损伤的保护作用[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(11): 2283-2291. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.001

**Cite this article as:** YANG Yan, TU Ligang, PENG Zhihong. Protective effect of dexmedetomidine on renal injury in diabetic nephropathy rats by regulating TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(11): 2283-2291. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.001