

网络出版时间: 2021-05-14 15:56 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210513.1448.002.html>

小檗碱调节 AKT/NF- κ B 信号通路对高糖诱导的足细胞损伤、凋亡和迁移的影响

汪佳佳¹, 胡亚琴¹, 吴昊¹, 唐丽琴^{1,2}, 魏伟¹

摘要 目的 探究小檗碱(BBR)对高糖环境下足细胞的保护作用及其机制。方法 取指数生长期的足细胞进行实验,将细胞分为五组:正常组、高糖组、BBR 30、60、90 μ mol/L 组。Annexin FITC/PI 双染法检测足细胞凋亡率,高内涵成像系统计算细胞数量,Transwell 和细胞划痕实验检测其迁移能力,Western blot 检测蛋白激酶 B/核转录因子 κ B(AKT/NF- κ B) 信号通路相关蛋白、细胞促凋亡蛋白(Bim)和足细胞标志性蛋白 WT-1、Podocin、desmin 的表达水平。结果 与正常组相比,Annexin FITC/PI 双染法结果显示,高糖组足细胞凋亡率上升($P < 0.01$);高内涵细胞成像系统显示足细胞数量减少($P < 0.01$);Transwell 结果显示迁移至下室的足细胞数增加($P < 0.01$);细胞划痕实验结果显示划痕愈合率上升($P < 0.01$);Western blot 结果显示,高糖组足细胞中 p-AKT、p-p65、p-I κ B α 、Bim、desmin 蛋白表达水平升高($P < 0.01$),WT-1、Podocin 蛋白表达水平降低($P < 0.01$)。与高糖组相比,BBR 给药后足细胞凋亡率下降($P < 0.05$);不同浓度 BBR 给药组的足细胞数量增多($P < 0.01$);迁移至下室的足细胞数有所减少($P < 0.05$);划痕愈合率下降($P < 0.01$);另外,BBR 给药降低了 p-AKT、p-p65、p-I κ B α 、Bim、desmin 蛋白表达水平($P < 0.05$),同时升高了 WT-1、Podocin 蛋白表达水平($P < 0.01$)。结论 BBR 可能通过 AKT/NF- κ B 信号通路改善高糖诱导的足细胞损伤、抑制足细胞凋亡、减弱足细胞迁移能力。

关键词 小檗碱;糖尿病肾病;足细胞;蛋白激酶 B;核因子 κ B;信号通路

中图分类号 R 285.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)06-0845-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.06.002

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿

病的微血管并发症之一。DN 的发生与炎症因子释放、脂糖代谢紊乱、氧化应激等因素相关^[1]。足细胞是肾小球的主要组成部分,可维持肾小球的滤过功能^[2]。足细胞损伤、凋亡和异常迁移是 DN 发展早期的一个重要标志,深入研究其损伤机制是研究 DN 发生发展的重要环节。核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B) 的激活与细胞凋亡、炎症免疫等密切相关^[3]。蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT) 受环境刺激磷酸化时,可促进 NF- κ B p65 的磷酸化入核、核因子抑制蛋白 α (inhibitor of NF- κ B α , I κ B α) 激酶活化^[4]。炎症反应的发生、细胞促凋亡蛋白(Bcl-2 interacting mediator of cell death, Bim) 异常上升。AKT/NF- κ B 信号通路的激活可导致足细胞损伤,加重肾脏病变^[5]。小檗碱(berberine, BBR) 又名黄连素,其药理作用广泛,包括降血糖、降血脂和抗炎等,对糖尿病具有一定的治疗作用^[6]。研究^[7]表明 BBR 能够缓解 DN 的足细胞损伤。该文研究了 BBR 对足细胞的保护作用及其与 AKT/NF- κ B 信号通路的关系,为临床上对 DN 的防治提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 小鼠肾小球足细胞株(货号:BNCC 337685)购自北京北纳创联生物技术有限公司,由中国医学科学院基础医学研究所建系。

1.1.2 药物 BBR(货号:BW 50137)购自北京北纳创联生物技术有限公司,经高效液相色谱法检测其纯度为 98.37%。精密称取 BBR 粉末 55.08 g,加入 1.820 ml 0.9% 氯化钠溶液混匀,加热、涡旋至完全溶解,配制成浓度为 $9 \times 10^4 \mu$ mol/L 的 BBR 储备液 0.22μ m 无菌过滤器过滤后于冰箱 -20°C 保存。使用前加热溶解,稀释到所需浓度即可用于实验。

1.1.3 试剂 Annexin FITC/PI apoptosis kit 细胞凋亡试剂盒(货号:AP101-400-kit)购自杭州联科生物科技股份有限公司;StarSignal 化学发光检测试剂盒(货号:E171-01)购自上海康朗生物科技有限公司;RPMI 1640 液体培养基(货号:SH30809.1)购自上

2021-03-05 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81773955)

作者单位:¹ 安徽医科大学临床药理研究所,合肥 230032

² 中国科学技术大学附属第一医院,合肥 230001

作者简介:汪佳佳,女,硕士研究生;

唐丽琴,女,博士,主任药师,教授,博士生导师,责任作者,

E-mail: tangliqin@ustc.edu.cn;

魏伟,男,博士,教授,博士生导师,责任作者, E-mail:

wwei@ahmu.edu.cn

海江林生物科技有限公司; 抗 AKT 抗体(货号: 4691S)、抗 p-AKT 抗体(货号: 4060S)、抗 p-p65 抗体(货号: 3033S)、抗 p65 抗体(货号: 8242S)、抗 p-I κ B α 抗体(货号: 2859S)、抗 I κ B α 抗体(货号: 9242S)、抗 Bim 抗体(货号: 2933) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 抗足细胞抑癌基因(Wilm's tumor gene-1, WT-1) 抗体(货号: sc-192)、抗肾小球足细胞裂隙膜蛋白(podocyte slit membrane protein, Podocin) 抗体(货号: sc-21009) 购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司。

1.1.4 仪器 OLYMPUS CKX31 型倒置显微镜为日本奥林巴斯有限公司产品; Image Xpress Micro4 型高内涵细胞成像系统为美国 Molecular Devecies 公司产品; FC500 型贝克曼流式细胞仪为美国贝克曼库尔特公司产品; Image Quant Las 4000 mini 型化学发光成像分析仪为美国 GEHealthcare Life Sciences 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 取出 -80 °C 冰箱或液氮中冷冻保存的细胞, 于 37 °C 水浴锅中解冻融化后离心, 用配制好的细胞培养基(RPMI 1640 基础培养基 + 10% 血清 + 1% 双抗 + 0.2% γ -干扰素) 重悬后转移至细胞培养瓶, 于 5% CO₂、37 °C 细胞培养箱中培养。

1.2.2 Annexin FITC/PI 双染法检测细胞凋亡 取 6 孔板, 每孔加入 1×10^6 个/ml 足细胞的单细胞悬液 2 ml, 贴壁后将其设为五组, 分别为正常组(葡萄糖浓度为 11.1 mmol/L)、高糖组(葡萄糖浓度为 30 mmol/L) 和不同浓度 BBR 给药组(BBR 30、60、90 μ mol/L 组) 按组分别加糖或给药后培养 24 h, 不含 EDTA 的胰酶消化离心, 收集细胞后, 采用 Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒进行实验, 于流式细胞仪上检测各组细胞凋亡率。

1.2.3 高内涵细胞成像系统检测细胞增殖 取 96 孔板, 将足细胞制备成单细胞悬液, 计数后每孔种 3×10^4 个/ml 的细胞悬液 100 μ l, 待细胞贴壁后分组加糖或给药, 24 h 后弃去上清液, 预冷 PBS 洗去死细胞, 经过 4% 多聚甲醛固定、DAPI 染核等步骤后上机, 高内涵细胞成像系统计算各组足细胞数量。

1.2.4 细胞迁移(Transwell) 实验 取出 24 孔板中的小室, 下室分别加入 500 μ l 的含 15% FBS 的 RPMI 1640 培养基, 分组和加药同 1.2.2, 再将 Transwell 小室放入对应的孔中, 上室每孔接种含 5% FBS 的 RPMI 1640 培养基、 1×10^3 个/ml 的单个足细胞悬液 200 μ l, 37 °C 培养箱培养 24 h 后取出小

室, 放入含 0.1% 结晶紫的 0.9% 氯化钠溶液中染色, 0.9% 氯化钠溶液清洗 2 次, 仔细擦去黏附于小室内壁的细胞, 使用倒置显微镜观察结果并拍摄留存。随机选取 5 个视野, 分别计算细胞数。

1.2.5 细胞迁移(划痕) 实验 在 6 孔板背面水平划出 6 条平行的直线(每孔均匀地穿过两条直线), 将细胞接种于 6 孔板中, 待细胞长至孔板的 80% 以上时在孔中均匀地划出与背面直线垂直的两条直线, PBS 洗去死细胞后, 分别刺激和给药同 1.2.2, 于 0、24 h 在显微镜下观察、拍照并计算划痕的面积。

1.2.6 Western blot 检测相关蛋白表达水平 将足细胞消化制备成单细胞悬液, 计数, 以每孔约 1×10^8 个细胞种于 6 孔板, 分组及加药同 1.2.2, 培养 24 h 后, 用 PBS 洗去死细胞及杂质, 将 150 μ l 含 1% PMSF 和 1% 磷酸酶抑制剂的 RIPA 细胞裂解液加入孔板中, 4 °C 裂解 30 min, 收集于 1.5 ml EP 管并离心, 所提取的蛋白在上清液中, 加入蛋白上样缓冲液煮沸后得到蛋白样本, 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 分别孵育 AKT、p-AKT、p65、p-p65、I κ B α 、p-I κ B α 、Bim、WT-1、Podocin、足细胞结蛋白(podocyte desmin, desmin) 对应抗体, 最后用化学发光成像分析仪进行检测。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 16.0 软件进行分析, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析(ANOVA), 两组之间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BBR 对足细胞凋亡的影响 与正常组相比, 高糖组足细胞凋亡率上升, 差异有统计学意义($F = 57.850$, $P < 0.01$); 与高糖组相比, BBR 30、60、90 μ mol/L 给药组能使足细胞的凋亡率下降, 差异有统计学意义($F = 75.594$, $P < 0.05$), 且随着 BBR 浓度的增大, 其降低凋亡率的能力也逐渐上升。见图 1。

2.2 BBR 对足细胞增殖数量的影响 与正常组相比, 高糖组足细胞数量减少, 差异有统计学意义($F = 267.701$, $P < 0.01$); 与高糖组相比, BBR 30、60、90 μ mol/L 组足细胞数量逐渐增加, 差异有统计学意义($F = 349.779$, $P < 0.01$)。见图 2。

2.3 BBR 对足细胞迁移能力的影响 与正常组相比, 高糖组迁移至下室的足细胞增多, 差异有统计学意义($F = 116.326$, $P < 0.01$); BBR 30、60、90 μ mol/L 组迁移至下室的细胞数逐渐下降, 与高糖组相比,

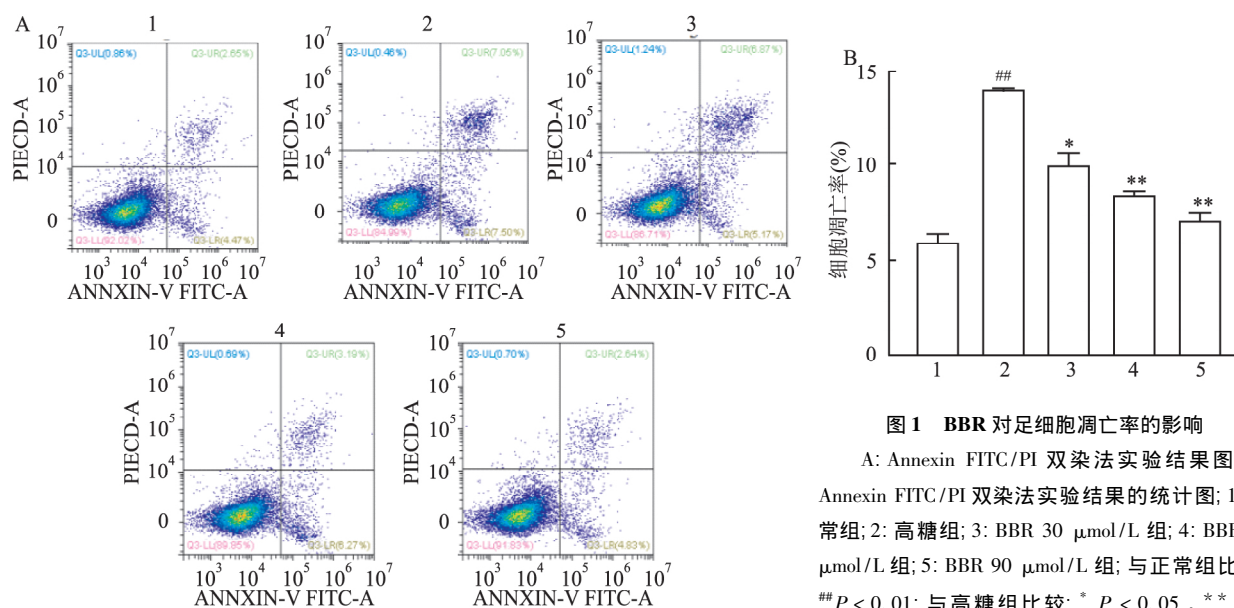


图1 BBR对足细胞凋亡率的影响

A: Annexin FITC/PI 双染法实验结果图; B: Annexin FITC/PI 双染法实验结果的统计图; 1: 正常组; 2: 高糖组; 3: BBR 30 $\mu\text{mol/L}$ 组; 4: BBR 60 $\mu\text{mol/L}$ 组; 5: BBR 90 $\mu\text{mol/L}$ 组; 与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与高糖组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

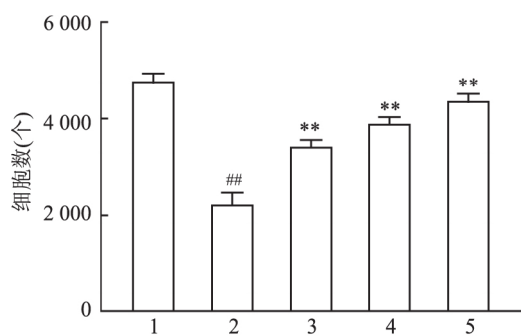


图2 BBR对足细胞生长的影响

1: 正常组; 2: 高糖组; 3: BBR 30 $\mu\text{mol/L}$ 组; 4: BBR 60 $\mu\text{mol/L}$ 组; 5: BBR 90 $\mu\text{mol/L}$ 组; 与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与高糖组比较: ^{**} $P < 0.01$

BBR 给药组迁移至下室的细胞数明显减少, 差异有统计学意义 ($F = 153.166$, $P < 0.05$)。见图 3A。与正常组相比, 高糖组划痕愈合率有所增加, 差异有统计学意义 ($F = 177.807$, $P < 0.01$); BBR 30、60、90 $\mu\text{mol/L}$ 组划痕愈合率逐渐降低, 与高糖组相比, BBR 给药组划痕愈合率降低, 异常迁移的足细胞数有所减少, 差异有统计学意义 ($F = 231.058$, $P < 0.01$)。见图 3B。

2.4 BBR 对高糖刺激后的足细胞相关蛋白表达的影响 Western blot 结果显示, 与正常组相比, 高糖组足细胞中的 AKT、p65、I κ B α 磷酸化水平升高, Bim 蛋白表达上升, p-AKT/AKT、p-p65/p-65、p-I κ B α /I κ B α 、Bim/ β -actin 上升, 差异有统计学意义 ($F = 13.978$ 、17.776、14.283、120.821, $P < 0.01$); 与高糖组相比, 不同浓度 BBR 给药组 AKT、p65、

I κ B α 磷酸化水平降低, Bim 蛋白表达下降, 差异有统计学意义 ($F = 14.971$ 、23.701、15.500、82.618, $P < 0.05$)。见图 4。

2.5 BBR 对足细胞标志性蛋白的影响 与正常组相比, 高糖组足细胞中的 WT-1、Podocin 蛋白表达下降, desmin 蛋白表达上升, 差异有统计学意义 ($F = 123.743$ 、21.447、172.166, $P < 0.01$); 与高糖组相比, 不同浓度 BBR 给药组 WT-1、Podocin 蛋白表达上升, desmin 蛋白表达下降, 差异有统计学意义 ($F = 164.146$ 、18.717、210.587, $P < 0.01$)。见图 5。

3 讨论

足细胞是肾小球的主要组成部分, 它与肾小球基底膜、内皮细胞共同构成了肾小球的滤过屏障, 保证了肾小球的滤过功能^[8]。而高血糖环境会导致足细胞损伤、足突融合消退, 足细胞异常迁移、从基底膜上脱落^[9]。足细胞的损伤、丢失又能进一步加重肾脏的病变。本研究是以足细胞为研究对象, 高糖组的建立是借助于 30 mmol/L 的葡萄糖刺激 24 h 产生, 该方法的可行性已有研究^[10]证实。本次研究结果显示, 相比于高糖组, 不同浓度的 BBR 给药组能够降低足细胞凋亡率, 增强足细胞增殖能力, 缓解足细胞异常迁移。说明 BBR 给药能有效抑制高糖刺激下的足细胞凋亡、减弱足细胞迁移能力、改善足细胞功能异常。刘青等^[11]研究表明不同浓度 (30、60、90 $\mu\text{mol/L}$) 的 BBR 给药能不同程度地发挥足细胞保护作用, 与本次实验的研究结果一致, 且为本次实验 BBR 的浓度选择提供了理论依据。

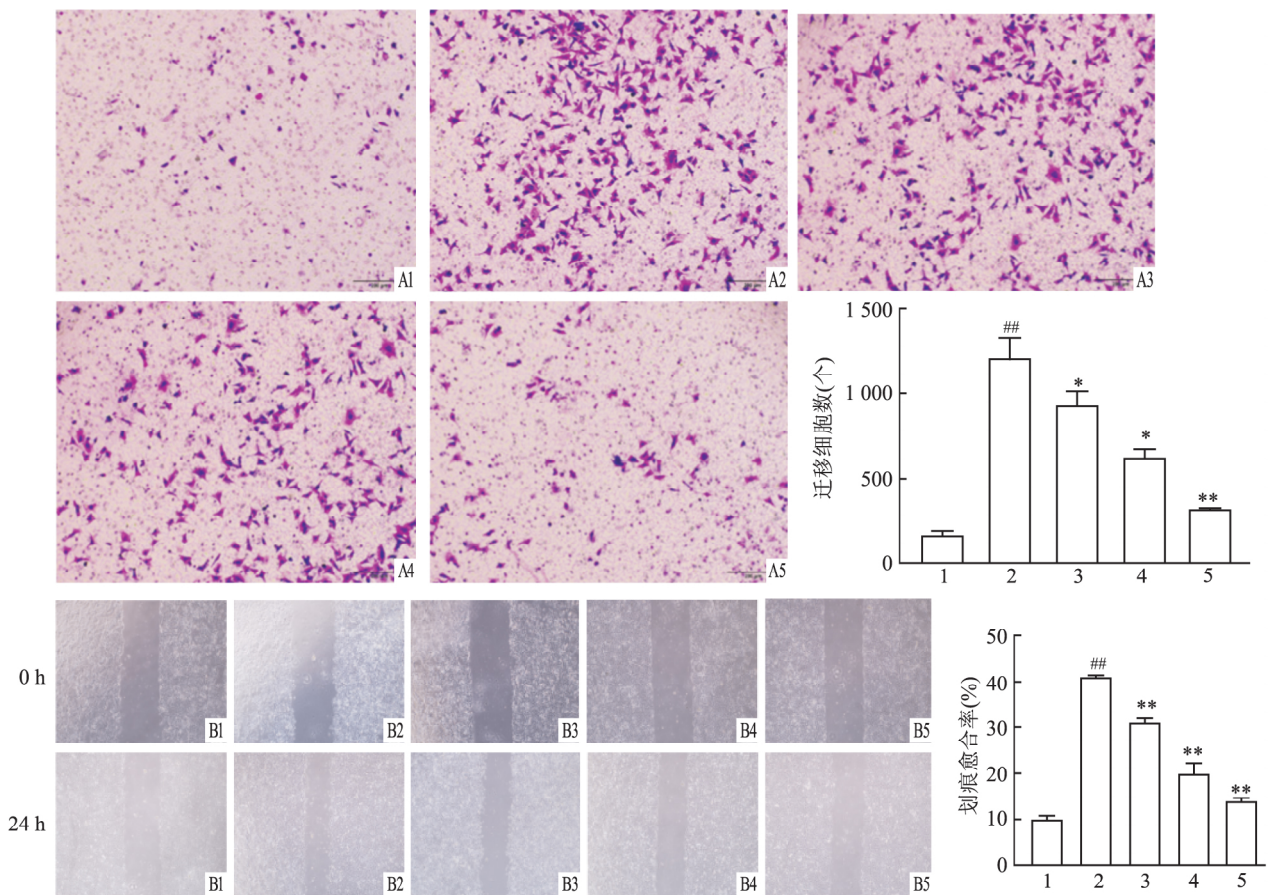


图3 BBR对足细胞迁移能力的影响

A: Transwell 检测迁移细胞数 结晶紫染色 $\times 200$; B: 细胞划痕实验检测划痕愈合率 $\times 200$; 1: 正常组; 2: 高糖组; 3: BBR 30 $\mu\text{mol/L}$ 组; 4: BBR 60 $\mu\text{mol/L}$ 组; 5: BBR 90 $\mu\text{mol/L}$ 组; 与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与高糖组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

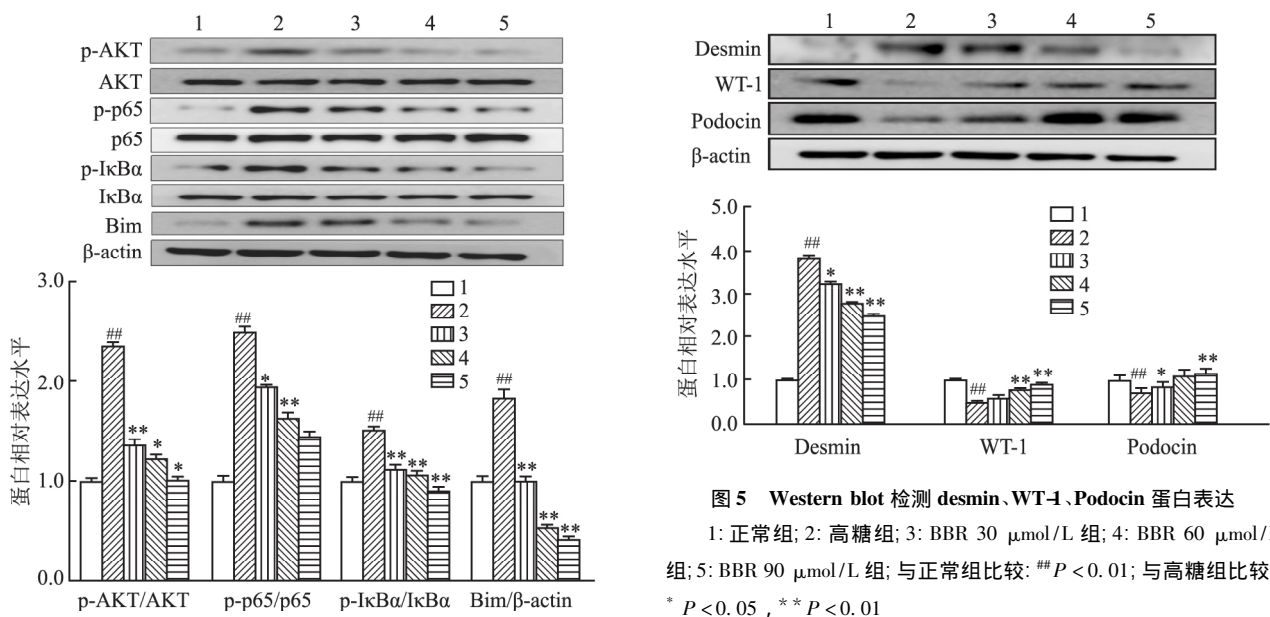


图5 Western blot 检测 desmin、WT-1、Podocin 蛋白表达

1: 正常组; 2: 高糖组; 3: BBR 30 $\mu\text{mol/L}$ 组; 4: BBR 60 $\mu\text{mol/L}$ 组; 5: BBR 90 $\mu\text{mol/L}$ 组; 与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与高糖组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

图4 Western blot 检测 p-AKT/AKT、p-p65/p-65、p-IκBα/IκBα and Bim/β-actin 蛋白表达

1: 正常组; 2: 高糖组; 3: BBR 30 $\mu\text{mol/L}$ 组; 4: BBR 60 $\mu\text{mol/L}$ 组; 5: BBR 90 $\mu\text{mol/L}$ 组; 与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与高糖组比较: ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

Podocin、WT-1 和 desmin 都属于足细胞标志蛋白, Podocin 和 WT-1 是细胞骨架的重要分子结构, 在足细胞损伤时会发生缺失。而 desmin 是细胞骨

架的中间丝蛋白,正常条件下不表达或低表达,但在足细胞功能受损时大量表达。本次研究结果显示,相比于模型组,BBR 给药组能够升高 Podocin、WT-1 蛋白的表达,降低 desmin 蛋白的表达,说明 BBR 给药能够改善足细胞标志性蛋白的异常表达,缓解足细胞损伤。NF- κ B 家族有 5 个成员: RelA (p65)、RelB、c-Rel、p50 和 p52。正常情况下,NF- κ B 二聚体通过协同 I κ B 定位于细胞质中,其包括 3 种经典的蛋白 I κ B α 、I κ B β 和 I κ B ϵ ^[12]。当 I κ B α 被免疫蛋白酶降解时会释放活化的 p65,并促使其向细胞核内转化,有研究表明 AKT 的磷酸化会促进 NF- κ B 信号通路的激活,进而促进细胞凋亡^[13]。Bim 是一种细胞凋亡蛋白,会在凋亡的细胞中大量表达,激活 NF- κ B 信号通路促细胞凋亡的同时 Bim 蛋白异常上升^[14]。本研究显示,相比于模型组,BBR 给药组能有效降低高糖刺激下 AKT、p65、I κ B α 的磷酸化水平,同时降低细胞凋亡蛋白 Bim 的表达水平,说明 BBR 可能通过 AKT/NF- κ B 信号通路改善足细胞凋亡。Wang et al^[15] 研究表明 NF- κ B 信号通路与足细胞凋亡密切相关,与本次研究结果一致。

综上所述,高糖刺激可以通过调节 AKT/NF- κ B 信号通路下调异常表达的 Bim 蛋白,从而抑制足细胞凋亡、改善足细胞损伤、减弱足细胞迁移能力以发挥足细胞保护作用。

参考文献

- [1] Di Vincenzo A, Tana C, El Hadi H, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, and metabolic properties of tocopherols and tocotrienols: clinical implications for vitamin E supplementation in diabetic kidney disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5101.
- [2] 黄琼芳,赵天娇,苏扬妮,等. 芍药苷 6'-O-苯磺酸酯对高胰岛素诱导足细胞功能损伤的影响[J]. *安徽医科大学学报* 2021, 56(2): 267-71.
- [3] Oeckinghaus A, Hayden M S, Ghosh S. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(8): 695-708.
- [4] Xiao D, Yang R, Gong L, et al. Plantamajoside inhibits high glucose-induced oxidative stress, inflammation, and extracellular matrix accumulation in rat glomerular mesangial cells through the inactivation of Akt/NF- κ B pathway[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2020, 41(1): 45-52.
- [5] 马玉,杨雯雯,范哲,等. 褪黑素对高糖刺激系膜细胞 NF- κ B 与 TGF β /Smad3 的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(6): 840-5.
- [6] Wang Y, Yan A, Li S, et al. Efficacy and safety of berberine in the treatment of type 2 diabetes with insulin resistance: protocol for a systematic review[J]. *Medicine*, 2019, 98(35): e16947.
- [7] 王盈盈,刘青,唐丽琴,等. 小檗碱对高糖诱导足细胞功能及相关蛋白表达的影[J]. *中国药理学通报* 2018, 34(8): 1158-63.
- [8] Carney E F. Diabetic nephropathy: restoring podocyte proteostasis in DN[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(9): 514.
- [9] Nagata M. Podocyte injury and its consequences[J]. *Kidney Int*, 2016, 89(6): 1221-30.
- [10] Li R, Dong W, Zhang S, et al. Septin 7 mediates high glucose-induced podocyte apoptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(3): 522-8.
- [11] 刘青,汪佳佳,胡亚琴,等. 小檗碱调节 PI3K/AKT/FOXO1/Bim 信号通路改善高糖诱导的足细胞损伤[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(3): 329-34.
- [12] O'Dea E, Hoffmann A. NF- κ B signaling[J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2009, 1(1): 107-15.
- [13] Zhu J, Shi L, Du G, et al. Upregulated SET promotes cell survival through activating Akt/NF- κ B signal in colorectal carcinoma[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 4735-45.
- [14] Sun F R, Wang S L, Wang M, et al. Simvastatin induces apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells through NF- κ B signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(12): 6726-34.
- [15] Wang L, Zhang L, Hou Q, et al. Triptolide attenuates proteinuria and podocyte apoptosis via inhibition of NF- κ B/GADD45B[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10843.

Effects of berberine on podocyte injury, apoptosis and migration induced by high glucose through regulating AKT/NF- κ B signaling pathway

Wang Jiajia, Hu Yaqin, Wu Hao, et al

(*Institute of Clinical Pharmacology Anhui Medical University Hefei 230032*)

Abstract Objective To study the protective effect of berberine (BBR) on podocytes in high glucose environment and to discuss its mechanism. **Methods** The exponential growth stage of the glomerular podocyte was selected. The podocyte were divided into 5 groups, including normal control group, high-glucose model group and BBR was given in concentrations of 30, 60 and 90 μ mol/L. Annexin FITC/PI double staining was used to detect the apoptosis

网络出版时间: 2021-05-14 14:53 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210513.1448.003.html>

AKT/mTOR 信号通路介导神经病理性疼痛对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用

李玉为 张巧云 曹亚红 王家友 李 锐

摘要 目的 探讨神经病理性疼痛对大鼠心肌缺血灌注损伤的影响及蛋白激酶 B (AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路参与该过程的调节机制。方法 SD 大鼠 42 只, 体重 250~320 g (10 周龄), 采用随机数字表法分为 3 组: 对照组 (Con 组)、心肌缺血再灌注损伤组 (I/R 组)、神经病理性痛 + 心肌缺血再灌注损伤组 (NP + I/R 组)。采用坐骨神经慢性缩窄损伤 (CCI) 法制备神经病理性疼痛模型, 术前、术后第 3、7、14 天测定各组大鼠机械缩足反应阈 (MWT) 和热缩足潜伏期 (TWL), 术后第 14 天结扎左冠状动脉前降支, 缺血 30 min 再灌注 120 min, 建立心肌缺血再灌注损伤模型。术毕取心脏制作切片, 检测梗死区 (IS) 和缺血危险区 (AAR), 计算心肌梗死面积。Western blot 法检测心肌组织

AKT/mTOR 信号通路和自噬相关的 AKT、mTOR 和微管相关蛋白 1 轻链 3 (LC3) 蛋白表达。结果 与 Con 组相比, I/R 组和 NP + I/R 组 CCI 术后第 3、7、14 天的 MWT 和 TWL 降低, I/R 组 IS/AAR 增加, p-AKT/AKT 和 p-mTOR/mTOR 比值降低, LC3-II/I 比值增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 I/R 组相比, NP + I/R 组 IS/AAR 降低, p-AKT/AKT 和 p-mTOR/mTOR 比值增加, LC3-II/I 比值降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 神经病理性疼痛减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤, 其机制可能与神经病理性疼痛调控 AKT/mTOR 信号通路抑制细胞过度自噬有关。

关键词 神经病理性疼痛; 心肌缺血再灌注损伤; 心肌保护
中图分类号 R 541.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)06-0850-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.06.003

2021-03-19 接收

基金项目: 安徽省高校科学研究项目 (编号: KJ2019A0283)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院麻醉与围术期医学科 麻醉与围术期医学安徽普通高校重点实验室, 合肥 230601

作者简介: 李玉为, 女, 硕士研究生;

李 锐, 男, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: lrayd@sina.com

心肌缺血是缺血性心脏病患者发病和死亡的主要原因之一, 往往需要溶栓或经皮冠状动脉介入治疗。冠状动脉缺血一段时间后再灌注会进一步加重心肌损伤。缺血预处理可以有效减轻心肌缺血再灌

rate of podocytes. High-intension imaging system was used to detect cell proliferation, podocyte migration was measured by transwell and cell scratch assay, Western blot detected the expression of AKT/NF- κ B signaling pathway related proteins, apoptotic protein Bim, and the podocyte marker proteins WT-1, Podocin and desmin. **Results**

Compared with the normal group, the results of Annexin FITC/PI double staining showed that the apoptosis rate of podocytes in the high glucose group increased ($P < 0.01$); The high-content imaging system showed that the number of podocytes in the high glucose group decreased ($P < 0.01$); Transwell showed that the number of podocytes migrate ability increased in the high glucose group ($P < 0.01$); The cell scratch showed that the scratch healing rate of the high glucose group increased ($P < 0.01$); Western blot showed that the expression levels of p-AKT, p-p65, p-I κ B α , Bim, and desmin protein in the podocytes of the high glucose increased ($P < 0.01$), and the expression of WT-1 and Podocin proteins decreased ($P < 0.01$). Compared with the high glucose group, the apoptosis rate of podocytes decreased after add BBR ($P < 0.05$); the number of podocytes increased in the different concentrations of BBR ($P < 0.01$); the number of podocyte migration was lower ($P < 0.05$); Scratch healing rate decreased ($P < 0.01$); In addition, BBR reduced the protein expression levels of p-AKT, p-p65, p-I κ B α , Bim and desmin ($P < 0.05$), the expression level of WT-1 and Podocin protein increased ($P < 0.01$). **Conclusion** BBR may improve the podocyte injury, inhibit the podocyte apoptosis, and weaken the podocyte migration ability induced by high glucose through regulating AKT/NF- κ B signaling pathway.

Key words berberine; diabetic nephropathy; podocyte; AKT; NF- κ B; signaling pathway