

· 实验研究 ·

右美托咪定激活 Akt 通路对缺氧复氧肾小管上皮细胞凋亡的影响

翁迪贵 林群 袁锦强 黄庆清

【摘要】 目的 观察右美托咪定对缺氧复氧诱导肾小管上皮细胞凋亡的作用,并探讨其作用机制。**方法** 将人肾小管上皮细胞分五组干预:对照组(C组),常氧环境中培养 28 h;缺氧复氧组(HR组),低氧环境中培养 24 h 后常氧环境中培养 4 h;右美托咪定处理组(D组),复制缺氧复氧模型前以右美托咪定处理 2 h;Akt 阻断剂 Uprosertib 处理组(U组),复制缺氧复氧模型前以 Akt 阻断剂 Uprosertib 处理 1 h;右美托咪定复合 Akt 阻断剂 Uprosertib 处理组(DU组),复制缺氧复氧模型前以 Akt 阻断剂 Uprosertib 处理 1 h,再以右美托咪定处理 2 h。采用 Ellsa 法检测细胞上清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度,MTT 法检测细胞存活率,流式细胞仪检测细胞凋亡率,Western blot 法检测 Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-9、p-Akt 蛋白含量。**结果** 与 C 组比较,HR 组、D 组、U 组和 DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度、细胞凋亡率、Bax、caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显升高($P < 0.05$),细胞存活率、Bcl-2、p-Akt 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)。与 HR 组比较,D 组和 DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度、细胞凋亡率、Bax、caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显降低($P < 0.05$),细胞存活率、Bcl-2、p-Akt 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。U 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度、细胞凋亡率、Bax、caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显升高($P < 0.05$),细胞存活率、Bcl-2、p-Akt 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)。与 D 组比较,U 组和 DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度、细胞凋亡率、Bax、caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显升高($P < 0.05$),细胞存活率、Bcl-2、p-Akt 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)。与 U 组比较,DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度、细胞凋亡率、Bax、caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显降低($P < 0.05$),细胞存活率、Bcl-2、p-Akt 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。**结论** 右美托咪定可通过激活 Akt 信号通路,抑制缺氧复氧造成的肾小管上皮细胞凋亡,发挥保护作用。

【关键词】 右美托咪定;缺氧复氧;肾小管上皮细胞;Akt 通路;凋亡

Effect of dexmedetomidine activating Akt pathway on apoptosis of renal tubular epithelial cells after hypoxia reoxygenation

WENG Digui, LIN Qun, YUAN Jinqiang, HUANG Qingqing. Department of Anesthesiology, Mindong Hospital, Fujian Medical University, Ningde 355000 China

Corresponding author: HUANG Qingqing, Email: chiteh17138@sina.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of dexmedetomidine on apoptosis of renal tubular epithelial cells induced by hypoxia and reoxygenation. **Methods** Human renal tubular epithelial cells were divided into 5 groups for intervention: control group (group C), cultured in normoxia for 28 h; hypoxia reoxygenation group (group HR), cultured in hypoxic environment for 24 h and then cultured in normoxia for 4 h; dexmedetomidine treatment group (group D), treated with dexmedetomidine for 2 h before replicating the hypoxia reoxygenation model, Akt blocker Uprosertib treatment group (group U), blocked with Akt 1 h before the replication of the hypoxia-reoxygenation model Uprosertib treatment 1 h; dexmedetomidine combined with Akt blocker Uprosertib treatment group (group DU), before copying the hypoxic-reoxygenation model, the Akt blocker Uprosertib treatment 1h, then dexmedetomidine treatment 2 h. Ellsa method was used to detect the concentration of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in cell supernatant, MTT method was used to detect cell survival rate, flow cytometry was used to detect cell apoptosis rate, Western blot was used to detect Bcl-2, Bax, caspase 3. Protein content of caspase-9 and p-Akt. **Results** Compared with group C, the concentrations of TNF- α , IL-6, IL-1 β , the apoptosis rate, the protein contents of Bax, caspase-3 and caspase-9 were significantly increased ($P < 0.05$), the cell survival rate, the protein contents of Bcl-2 and p-Akt were significantly decreased in groups HR, D, U and DU ($P < 0.05$). Compared with group HR,

DOI:10.12089/jca.2020.09.014

作者单位:355000 宁德市,福建医科大学附属闽东医院麻醉科(翁迪贵、袁锦强、黄庆清);福建医科大学附属第一医院麻醉科(林群)

通信作者:黄庆清,Email: chiteh17138@sina.com

the concentrations of TNF- α , IL-6, IL-1 β , the apoptosis rate, the protein contents of Bax, caspase-3 and caspase-9 were significantly decreased ($P < 0.05$), the cell survival rate, the protein contents of Bcl-2 and p-Akt were significantly increased in group D and DU ($P < 0.05$), the concentrations of TNF- α , IL-6, IL-1 β , the apoptosis rate, the protein contents of Bax, caspase-3 and caspase-9 were significantly increased ($P < 0.05$), the cell survival rate, the protein contents of Bcl-2 and p-Akt were significantly decreased in group U ($P < 0.05$). Compared with group D, the concentrations of TNF- α , IL-6, IL-1 β , the apoptosis rate, the protein contents of Bax, caspase-3 and caspase-9 increased were significantly increased ($P < 0.05$), the cell survival rate, the protein contents of Bcl-2 and p-Akt were significantly decreased in groups U and DU ($P < 0.05$). Compared with group U, the concentrations of TNF- α , IL-6, IL-1 β , the apoptosis rate, the protein contents of Bax, caspase-3 and caspase-9 were significantly decreased ($P < 0.05$), the cell survival rate, the protein contents of Bcl-2 and p-Akt were significantly increased in group DU ($P < 0.05$). **Conclusion** Dexmedetomidine can protect renal tubular epithelial cells from apoptosis induced by hypoxia and reoxygenation by activating Akt signaling pathway.

【Key words】 Dexmedetomidine; Hypoxia reoxygenation; Renal tubular epithelial cells; Akt pathway; Apoptosis

创伤、出血以及心肺旁路手术、大血管手术、肾移植等大手术引发的缺血-再灌注损伤,可导致急性肾损伤^[1-2]。大量研究已表明,手术过程中应用的麻醉药物不仅具有麻醉作用,还可抑制肾缺血-再灌注损伤引发的细胞凋亡^[3-5]。右美托咪定是一种高选择性的 α_2 肾上腺素受体激动药,具有良好的镇静、镇痛、抗交感神经与稳定血流动力学的作用,同时其还具有器官保护作用^[6-7]。临床研究与基础研究均已证明右美托咪定对肾脏具有保护作用。本实验观察右美托咪定对缺氧复氧诱导肾小管上皮细胞凋亡的作用,并探讨其作用机制。

材料与方法

实验材料 人肾小管上皮细胞(PH1048,货号:QCPH1048),右美托咪定(批号:国药准字H20090248),Akt 阻断剂 Uprosertib (Synonyms: GSK2141795,批号:HY-15965),Bax(批号:YT150),Bcl-2(批号:YT151),caspase-3(批号:orb238162),caspase-9(批号:orb310218),流式细胞仪(型号:V13242),Akt1/2/3 抗体(批号:AP20658c),p-Akt 抗体(批号:Thr473),肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 检测试剂盒(批号:FK-SZ10384),白细胞介素 6 (IL-6) 检测试剂盒(批号:JKSJ-1304),白细胞介素 1 β (IL-1 β) 检测试剂盒(批号:JK-SJ-32862)。

实验分组与处理 复苏冻存的人肾小管上皮细胞后,加入含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% 二氧化碳与饱和湿度的培养箱内贴壁培养。当细胞融合达到 80% 左右时,胰酶消化后重悬离心,将细胞以 5×10^3 /孔的密度接种于 96 孔板内,分组干预。将人肾小管上皮细胞分五组干预:对照组(C 组)细胞置于含 21% O_2 、74% N_2 、5%

CO_2 的培养箱内培养 28 h;缺氧复氧组(HR 组)细胞置于含 1% O_2 、94% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 24 h,随后置于含 21% O_2 、74% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 4 h^[8];右美托咪定组(D 组)细胞预先以 0.1 nmol/L 的右美托咪定孵育 2 h,然后置于含 1% O_2 、94% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 24 h,最后置于含 21% O_2 、74% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 4 h;Akt 阻断剂 Uprosertib 处理组(U 组)先以 10 $\mu\text{mol/L}$ Akt 阻断剂 Uprosertib 孵育 1 h,随后置于含 1% O_2 、94% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 24 h,最后置于含 21% O_2 、74% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 4 h;右美托咪定复合 Akt 阻断剂 Uprosertib 处理组(DU 组)细胞先以 10 $\mu\text{mol/L}$ Akt 阻断剂 Uprosertib 孵育 1 h,然后以 0.1 nmol/L 的右美托咪定孵育 2 h,随后置于含 1% O_2 、94% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 24 h,最后置于含 21% O_2 、74% N_2 、5% CO_2 的培养箱内培养 4 h。四组环境温度均为 37 $^{\circ}\text{C}$ 。预实验中以 0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 Uprosertib 对 HR 组细胞进行干预,实验结果显示在 0.01 ~ 10 $\mu\text{mol/L}$ 剂量内 Uprosertib 呈剂量依赖性抑制 Akt 通路,而 100 $\mu\text{mol/L}$ 的剂量未较 10 $\mu\text{mol/L}$ 表现出更好的抑制效果,所以实验中选择了 10 $\mu\text{mol/L}$ 的抑制剂量。

炎症因子水平检测 将人肾小管上皮细胞按照如上分组干预后,提取细胞培养上清,采用 ELLSA 方法检测 TNF- α 、IL-1 β 与 IL-6 浓度。严格按照试剂盒说明书操作进行;以包被缓冲液将标准品稀释至蛋白质含量为 10 mg/L。在微孔内加入稀释好后的 50 μl 标准品、50 μl 待测样品,同时设计 3 个复孔和阴性对照;立即加入 50 μl 的生物素标记的抗体,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 1 h,洗涤,于各反应孔中加入 TMB 底物溶液 50 μl ,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 10 min,加入 50 μl 终止液,

于 450 nm 波长处测定各孔 A 值,计算样品浓度。

细胞活力检测 将人肾小管上皮细胞按照如上分组干预后,每孔内加入 MTT 溶液 10 μ l,继续培养 4 h,弃上清,每孔加入 150 μ l DMSO,置于摇床内震荡 10 min,利用酶标仪在 490 nm 波长处检测各孔 A 值,计算细胞存活率。

细胞凋亡率检测 将人肾小管上皮细胞按照如上分组干预后,胰酶消化细胞,以 PBS 清洗 2 次。12 000 r/min 离心 3 min 后弃上清,以 PBS 重悬细胞后计数。取 1×10^6 细胞重悬于结合缓冲液中,然后加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 5 μ l PI,混匀后于 4 $^{\circ}$ C 中避光孵育 30 min。最后加入 300 μ l 结合缓冲液,进行流式细胞仪检测。

凋亡蛋白检测 将人肾小管上皮细胞按照如上分组干预后,收集细胞,弃培养液后加入细胞裂解液,冰上孵育 20 min 后 12 000 r/min 离心 10 min,采用 BCA 法检测蛋白浓度。取适量的蛋白样品,加入 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液煮沸 10 min;将 40 μ g 蛋白样品加入 SDS-PAGE 凝胶泳道内,80 V 恒压电泳,当蛋白变为一条直线时将电压转换为 120 V,当染料到达下层分离胶的底部时停止电泳;将凝胶中的蛋白转移至 PVDF 膜上,在洗膜缓冲液内以 5%脱脂奶粉封闭 1 h,然后加入稀释的一抗 (Bcl-2、Bax、caspase-3、caspase-9),4 $^{\circ}$ C 孵育 12 h;TBST 清洗 3 次,加入稀释的 HRP 标记的二抗,室温孵育 60 min,ECL 显色,曝光,利用图像软件分析胶片灰度值。

Akt 通路蛋白检测 将人肾小管上皮细胞按照如上分组干预后,收集细胞,弃培养液后加入细胞裂解液,冰上孵育 20 min 后 12 000 r/min 离心 10 min,采用 BCA 法检测蛋白含量。按照上述方法检测 Akt、p-Akt 蛋白含量。

统计分析 实验数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析,每组实验重复 3 次。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

炎症因子 与 C 组比较,HR 组、D 组、U 组和 DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度明显升高($P < 0.05$)。与 HR 组比较,D 组和 DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度明显降低($P < 0.05$),U 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度明显升高($P < 0.05$)。与 D 组比较,U 组和 DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度明显升高($P < 0.05$)。与 U

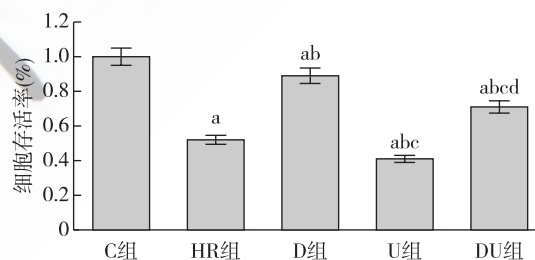
组比较,DU 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度明显降低($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 五组肾小管上皮细胞分泌炎症因子的比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-6	IL-1 β
C 组	5.78 $\pm$ 1.23	8.36 $\pm$ 0.21	6.25 $\pm$ 0.79
HR 组	15.24 $\pm$ 3.35 ^a	21.34 $\pm$ 3.75 ^a	18.19 $\pm$ 3.42 ^a
D 组	9.55 $\pm$ 2.13 ^{ab}	12.09 $\pm$ 1.18 ^{ab}	9.36 $\pm$ 1.10 ^{ab}
U 组	22.63 $\pm$ 2.48 ^{abc}	30.02 $\pm$ 5.21 ^{abc}	27.69 $\pm$ 4.47 ^{abc}
DU 组	12.36 $\pm$ 3.24 ^{abcd}	17.25 $\pm$ 2.24 ^{abcd}	14.31 $\pm$ 0.97 ^{abcd}

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 HR 组比较,^b $P < 0.05$;与 D 组比较,^c $P < 0.05$;与 U 组比较,^d $P < 0.05$

细胞活力 与 C 组比较,HR 组、D 组、U 组和 DU 组细胞存活率明显降低($P < 0.05$)。与 HR 组比较,D 组与 DU 组细胞存活率明显升高($P < 0.05$),U 组细胞存活率明显降低($P < 0.05$)。与 D 组比较,U 组与 DU 组细胞存活率明显降低($P < 0.05$)。与 U 组比较,DU 组细胞存活率明显升高($P < 0.05$) (图 1)。

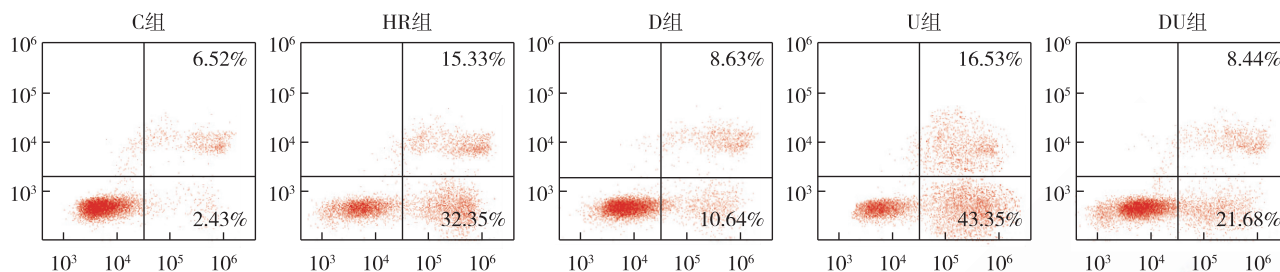


注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 HR 组比较,^b $P < 0.05$;与 D 组比较,^c $P < 0.05$;与 U 组比较,^d $P < 0.05$

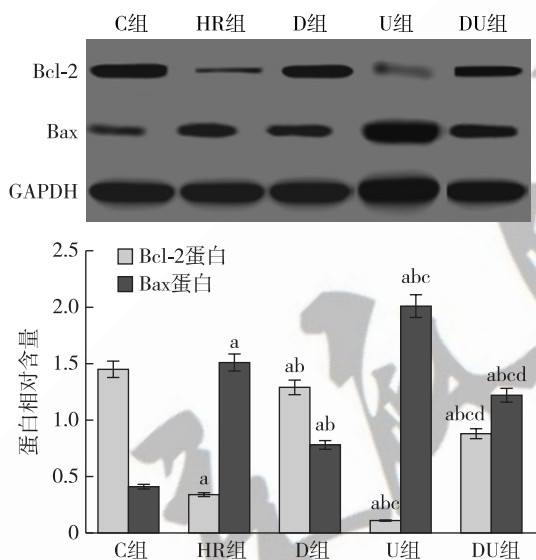
图 1 五组肾小管上皮细胞存活率的比较

细胞凋亡率 C 组、HR 组、D 组、U 组和 DU 组的细胞凋亡率分别为 (8.95 $\pm$ 0.12)%、(47.68 $\pm$ 3.01)%、(19.27 $\pm$ 3.18)%、(59.88 $\pm$ 4.03)% 和 (30.12 $\pm$ 4.16)%。与 C 组比较,HR 组、D 组、U 组和 DU 组细胞凋亡率明显升高($P < 0.05$)。与 HR 组比较,D 组与 DU 组细胞凋亡率明显降低($P < 0.05$),U 组细胞凋亡率明显升高($P < 0.05$)。与 D 组比较,U 组与 DU 组细胞凋亡率明显升高($P < 0.05$)。与 U 组比较,DU 组细胞凋亡率明显降低($P < 0.05$) (图 2)。

Bcl-2 和 Bax 蛋白含量 与 C 组比较,HR 组、D 组、U 组和 DU 组 Bcl-2 蛋白含量明显降低($P <$

图2 五组肾小管上皮细胞的凋亡图($\times 200$)

0.05), Bax 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。与 HR 组比较, D 组和 DU 组 Bcl-2 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)、Bax 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)、U 组 Bcl-2 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)、Bax 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。与 D 组比较, U 组和 DU 组 Bcl-2 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)、Bax 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。与 U 组比较, DU 组 Bcl-2 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)、Bax 蛋白含量明显降低($P < 0.05$) (图 3)。

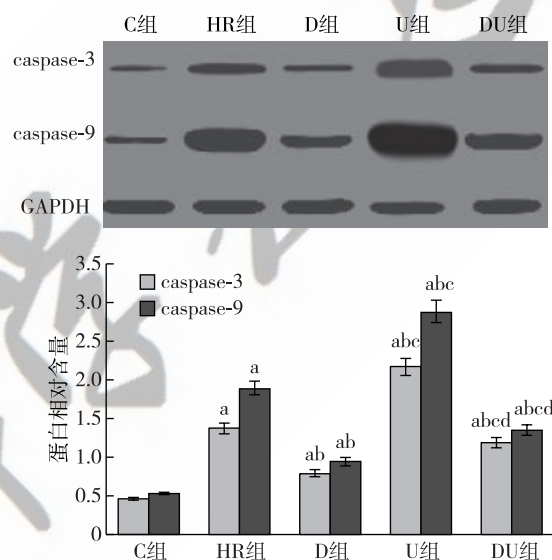


注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 HR 组比较,^b $P < 0.05$;与 D 组比较,^c $P < 0.05$;与 U 组比较,^d $P < 0.05$

图3 五组肾小管上皮细胞的 Bcl-2 蛋白与 Bax 蛋白含量的比较

caspase-3 和 caspase-9 蛋白含量 与 C 组比较, HR 组、D 组、U 组和 DU 组 caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。与 HR 组比较, D 组和 DU 组 caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)、U 组 caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。与 D 组比较, U 组和 DU 组 caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)。与 U 组比

较, DU 组 caspase-3、caspase-9 蛋白含量明显降低($P < 0.05$) (图 4)。



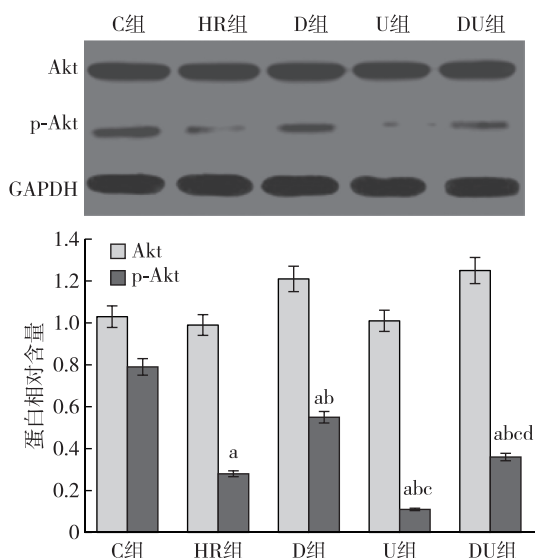
注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 HR 组比较,^b $P < 0.05$;与 D 组比较,^c $P < 0.05$;与 U 组比较,^d $P < 0.05$

图4 五组肾小管上皮细胞的 caspase-3 与 caspase-9 蛋白含量的比较

Akt 通路蛋白含量 五组 Akt 蛋白含量差异无统计学意义。与 C 组比较, HR 组、D 组、U 组和 DU 组 p-Akt 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)。与 HR 组比较, D 组和 DU 组 p-Akt 蛋白含量明显升高($P < 0.05$)、U 组 p-Akt 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)。与 D 组比较, U 组和 DU 组 p-Akt 蛋白含量明显降低($P < 0.05$)。与 U 组比较, DU 组 p-Akt 蛋白含量明显升高($P < 0.05$) (图 5)。

讨 论

急性肾损伤的主要原因为缺血-再灌注损伤, 而肾小管上皮细胞发生脂质过氧化损伤是肾缺血-再灌注损伤的主要病理生理基础。肾小管上皮细胞为肾脏的主要实质细胞, 较其他肾单位更容易发



注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;与 HR 组比较,^b $P<0.05$;与 D 组比较,^c $P<0.05$;与 U 组比较,^d $P<0.05$

图 5 五组肾小管上皮细胞的 Akt 通路蛋白含量的比较

生缺血性损伤。肾缺血-再灌注损伤可导致肾小管上皮细胞的凋亡或坏死^[9]。因此,减轻肾缺血-再灌注损伤的治疗靶点主要是肾小管上皮细胞。近年来,右美托咪定的器官保护作用受到了人们的广泛关注,不仅可以通过减少去甲肾上腺素释放,抑制炎症因子生成,减少应激所致机体损伤,还可减少氧化应激反应所致促炎症因子生成,保护脏器功能^[10],作用于神经传导通路,减少细胞凋亡,发挥器官保护作用。Cho 等^[11]临床研究表明,右美托咪定治疗可显著降低瓣膜心脏手术后患者急性肾损伤的发生率,并且减少其在重症监护室的治疗时间。Zhai 等^[12]研究表明,体外循环心脏瓣膜置换术中使用右美托咪定,可显著降低患者术后中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、血尿素氮、肌酐水平,证实了右美托咪定对肾脏的保护作用。因此,本实验研究以肾小管上皮细胞为对象建立缺氧复氧细胞模型,探讨右美托咪定抑制肾小管上皮细胞凋亡的作用机制。

缺氧复氧诱导肾小管上皮细胞分泌炎症因子,而炎症因子有进一步刺激肾小管上皮细胞,导致肾小管上皮细胞损伤^[13-14]。本实验研究结果显示,缺氧复氧后的肾小管上皮细胞培养液内 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度明显升高,细胞活力明显下降,细胞凋亡明显增加,凋亡蛋白 Bax、caspase-3 及 caspase-9 含量明显升高,抗凋亡蛋白 Bcl-2 含量明显降低,说明实验构建缺氧复氧肾小管上皮细胞损伤模型成功。

而在缺氧复氧模型的基础上抑制 Akt 信号通路后,细胞的损伤程度进一步加重,Akt 信号通路参与了缺氧复氧肾小管上皮细胞的损伤过程。

预实验中分别观察了 0.01、0.1、1、10 nmol/L 右美托咪定对缺氧复氧肾小管上皮细胞的作用,结果显示 0.1 nmol/L 右美托咪定预处理 2 h 可明显抑制缺氧复氧造成的肾小管上皮细胞损伤,因此本实验采用 0.1 nmol/L 的右美托咪定预处理肾小管上皮细胞 2 h。本实验研究结果显示,采用右美托咪定预处理可提升缺氧复氧肾小管上皮细胞的细胞活力,降低其 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度与减轻细胞凋亡,凋亡蛋白 Bax、caspase-3 及 caspase-9 含量降低,抗凋亡蛋白 Bcl-2 含量升高,提示右美托咪定对缺氧复氧造成的肾小管损伤具有减轻作用。

PI3K/Akt 信号通路能够通过促进 Bax 相关诱导细胞死亡蛋白的磷酸化失活及抗凋亡蛋白 Bcl-2 等的合成而共同抑制细胞内的凋亡通路^[15]。有研究表明,右美托咪定通过激活 PI3K/Akt 信号通路减少凋亡前体蛋白 Bcl-X 的合成,并且增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 的合成来抑制由缺血-再灌注损伤诱导产生的凋亡级联反应^[16]。本实验研究结果显示,缺氧复氧损伤后肾小管上皮细胞 p-Akt 蛋白含量明显降低,而右美托咪定预处理可明显提高缺氧复氧肾小管上皮细胞的 p-Akt 蛋白含量,提示 Akt 信号通路参与了右美托咪定的肾小管上皮细胞保护作用。为了进一步验证该通路的作用,进行了信号通路阻断实验,结果显示:抑制 p-Akt 表达后,右美托咪定预处理的缺氧复氧 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度明显升高,细胞活力明显下降,细胞凋亡明显升高,凋亡蛋白 Bax、caspase-3 及 caspase-9 含量明显升高,抗凋亡蛋白 Bcl-2 含量明显降低,提示右美托咪定通过激活 Akt 信号通路发挥了对缺氧复氧肾小管损伤的减轻作用。本实验研究结果还显示,抑制 Akt 信号通路的表达并未完全抑制右美托咪定的肾损伤保护作用,提示我们还有其他通路参与了右美托咪定的抗缺氧复氧肾小管凋亡作用,其具体的作用机制还有待进一步的研究验证。

综上所述,右美托咪定可通过激活 Akt 信号通路抑制缺氧复氧造成的肾小管上皮细胞凋亡,发挥保护作用。但是肾脏缺氧-再灌注损伤引发的肾小管上皮细胞损伤是一个多因素共同作用的病理生理过程,有关右美托咪定的作用机制尚需更深入的探讨。

参 考 文 献

- [1] Zhao C, Chen Z, Qi J, et al. Drp1-dependent mitophagy protects against cisplatin-induced apoptosis of renal tubular epithelial cells by improving mitochondrial function. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 20988-21000.
- [2] Tammaro A, Scantlebury A, Rampanelli E, et al. TREM1/3 Deficiency impairs tissue repair after acute kidney injury and mitochondrial metabolic flexibility in tubular epithelial cells. *Front Immunol*, 2019, 10: 1469.
- [3] Motayagheni N, Phan S, Eshraghi C, et al. A review of anesthetic effects on renal function: potential organ protection. *Am J Nephrol*, 2017, 46(5): 380-389.
- [4] Chang YC, Xue WJ, Ji W, et al. The protective effect of propofol against ischemia-reperfusion injury in the interlobar arteries: reduction of abnormal Cx43 expression as a possible Mechanism. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43(5): 1607-1622.
- [5] Erkiş E, Kesimci E, Alaybeyoğlu F, et al. Does remifentanyl attenuate renal ischemia-reperfusion injury better than dexmedetomidine in rat kidney? *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11(3): 677-683.
- [6] Cheng J, Zhu P, Qin H, et al. Dexmedetomidine attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in neonatal rats by inhibiting TLR4 signaling. *J Int Med Res*, 2018, 46(7): 2925-2932.
- [7] Behnenburg F, Pickert E, Mathes A, et al. The cardioprotective effect of dexmedetomidine in rats is dose-dependent and mediated by BKCa channels. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2017, 69(4): 228-235.
- [8] Chen H, Huang RS, Yu XX, et al. Emodin protects against oxidative stress and apoptosis in HK-2 renal tubular epithelial cells after hypoxia/reoxygenation. *Exp Ther Med*, 2017, 14(1): 447-452.
- [9] Wu M, Feng Y, Ye GX, et al. Calcium-sensing receptor activation attenuates collagen expression in renal proximal tubular epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 316(5): F1006-F1015.
- [10] 李梦倩, 李彬, 董铁立. 右美托咪定对大鼠离体肺缺血-再灌注损伤时 RIP K3/MLKL 介导程序性坏死的影响. *临床麻醉学杂志*, 2019, 35(9): 909-912.
- [11] Cho JS, Shim JK, Soh S, et al. Perioperative dexmedetomidine reduces the incidence and severity of acute kidney injury following valvular heart surgery. *Kidney Int*, 2016, 89(3): 693-700.
- [12] Zhai M, Kang F, Han M, et al. The effect of dexmedetomidine on renal function in patients undergoing cardiac valve replacement under cardiopulmonary bypass: A double-blind randomized controlled trial. *J Clin Anesth*, 2017, 40: 33-38.
- [13] Zhang YQ, Chen Y, Ding YM, et al. Protective effect of cyclosporine on inflammatory injury of renal tubular epithelial cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(19): 6551-6559.
- [14] Bai Y, Han G, Guo K, et al. Effect of lentiviral vector-mediated KSR1 gene silencing on the proliferation of renal tubular epithelial cells and expression of inflammatory factors in a rat model of ischemia/reperfusion injury. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(8): 807-816.
- [15] Wang Z, Zhou L, Zheng X, et al. Autophagy protects against PI3K/Akt/mTOR-mediated apoptosis of spinal cord neurons after mechanical injury. *Neurosci Lett*, 2017, 656: 158-164.
- [16] Cai Y, Xu H, Yan J, et al. Molecular targets and mechanism of action of dexmedetomidine in treatment of ischemia/reperfusion injury. *Mol Med Rep*, 2014, 9(5): 1542-1550.

(收稿日期:2019-09-08)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《临床麻醉学杂志》关于一稿两投问题的声明

为维护学术刊物的严肃性和科学性,也为了维护作者的名誉和向广大读者负责,本刊编辑部重申坚决反对一稿两投并采取以下措施:(1)作者和单位对来稿的真实性和科学性均应自行负责。刊出前需第一作者在校样首页亲笔签名,临床研究和实验研究来稿的通信作者也需亲笔签名。(2)来稿需附单位推荐信,应注明稿件无一稿两投,署名无争议,并加盖公章。(3)凡接到编辑部收稿回执后3个月内未接到退稿通知,系稿件仍在审阅中,作者欲投他刊,或将在他刊上发表,请先与编辑部联系撤稿,切勿一稿两投。(4)编辑部认为来稿有一稿两投嫌疑时,在认真收集有关资料和仔细核对后通知作者,并由作者就此问题作出解释。(5)一稿两用一经证实,将择期在杂志上刊出其作者单位和姓名以及撤销该文的通知;向作者所在单位和同类杂志通报;2年内拒绝发表该作者为第一作者所撰写的任何来稿。