

本文引文格式:何冲,姚新明,孔祥.达格列净对糖尿病肾脏病的保护作用及机制研究[J].  
右江民族医学院学报,2022,44(2):168-173.

【论著与临床报道】

## 达格列净对糖尿病肾脏病的保护作用及机制研究

何冲<sup>1,2</sup>,姚新明<sup>1</sup>,孔祥<sup>1</sup>

(1. 皖南医学院第一附属医院内分泌科,安徽 芜湖 241001;

2. 皖南医学院研究生学院,安徽 芜湖 241001)

**摘要:**目的 研究达格列净对糖尿病肾脏病的保护作用及机制。方法 将28只大鼠随机均分为4组:正常组、达格列净干预正常组、糖尿病组、达格列净干预糖尿病组。灌胃法每天给予大鼠达格列净(1 mg/kg)8周后,ELISA法检测各组大鼠尿微量白蛋白,WST-1法检测肾脏组织和尿液SOD活性,TBA法检测肾脏组织和尿液MDA含量,RT-PCR检测肾脏组织p22phox、p67phox、Nox2(pg91)mRNA表达,Western blot检测肾脏组织p22phox、p67phox、Nox2(pg91)、磷酸化P38MAPK蛋白表达,PAS染色观察肾脏组织病理形态。结果 相对于正常大鼠,糖尿病大鼠尿微量白蛋白排泄增多,肾脏组织和尿液SOD活性减弱,同时MDA含量增加,肾脏组织p22phox、p67phox、Nox2(pg91)mRNA及蛋白表达,磷酸化P38MAPK蛋白表达增强,肾脏组织病理改变明显;达格列净治疗后,糖尿病大鼠尿微量白蛋白排泄减少,肾脏组织和尿液SOD活性增强,同时MDA含量减少,肾脏组织p22phox、p67phox、Nox2(pg91)mRNA及蛋白表达,磷酸化P38MAPK蛋白表达减弱,肾脏组织病理形态改善。结论 达格列净可能通过降低糖尿病大鼠血糖,抑制肾脏组织P38MAPK信号通路,减轻氧化应激,进而保护肾脏。

**关键词:**达格列净;糖尿病肾脏病;P38MAPK;氧化应激

**中图分类号:**R587.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1001-5817(2022)02-0168-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.02.006

## Protective effect and mechanism of dapagliflozin on diabetic kidney disease

He Chong<sup>1,2</sup>, Yao Xinming<sup>1</sup>, Kong Xiang<sup>1</sup>

(1. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui, China; 2. Graduate School, Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui, China)

**Abstract:** **Objective** To study the protective effect and mechanism of dapagliflozin on diabetic kidney disease. **Methods** 28 rats were randomly divided into four groups: a normal group, a dapagliflozin intervention normal group, a diabetes group, a dapagliflozin intervention diabetes group. After 8 weeks of intragastric administration of dapagliflozin (1 mg/kg) for all rats, their urine microalbumin was detected by Elisa; their SOD activity in kidney tissue and urine by WST-1; the MDA content in kidney tissue and urine by TBA; the mRNA expressions of p22phox, p67phox, Nox2 (pg91) in renal tissue by Real-time PCR; the protein expressions of p22phox, p67Phox, Nox2 (pg91), phosphorylated P38MAPK in renal tissues by Western blot. The pathomorphism of rats' kidney was observed by PAS staining. **Results** Compared with normal rats, diabetic rats had increased excretion of urine microalbumin, decreased SOD activity in kidney and urine, and increased MDA content. They also had increased mRNA expressions and protein expressions of p22phox, p67phox, Nox2

**基金项目:**国家自然科学基金项目(81970699);安徽省自然科学基金项目(1608085QH191);安徽省重点研究与开发计划项目(202004j07020050)

**第一作者简介:**何冲(1989-),女,在读硕士研究生,研究方向:糖尿病肾脏病,E-mail:783625518@qq.com

**通讯作者简介:**姚新明(1981-),男,博士,副教授,研究方向:糖尿病肾脏病,E-mail:yxm6965@sina.com

(pg91) as well as protein expression of phosphorylated P38MAPK in kidney tissues. The kidney tissues had obvious pathological changes. After treatment with dapagliflozin, the diabetic rats had decreased excretion of urine microalbumin and increased SOD activity in kidney tissues and urine. There was a decrease in their MDA content as well as in mRNA and protein expressions of p22phox, p67phox, Nox2 (pg91) in kidney tissues. Their protein expressions of phosphorylated P38MAPK decreased, and the pathological morphology of kidney tissues improved. **Conclusion** Dapagliflozin can inhibit P38MAPK signaling pathway in renal tissues and alleviate oxidative stress by reducing the blood glucose of diabetic rats to protect their kidneys.

**Key words:** dapagliflozin; diabetic kidney disease; P38MAPK; oxidative stress

糖尿病肾脏病(diabetic kidney disease,DKD)是糖尿病常见的并发症,其病理特征主要包括肾小球系膜区细胞外基质沉积,肾小球系膜扩张,肾小球基底膜增厚,肾小球硬化及肾小管间质纤维化。DKD的临床特征表现为早期出现微量白蛋白尿,逐步进展至大量白蛋白尿和血清肌酐水平上升,最终发生肾功能衰竭<sup>[1]</sup>。DKD的发病机制尚未明确,有研究表明其与氧化应激和 P38MAPK 信号通路的激活有关<sup>[2-3]</sup>。葡萄糖共转运蛋白 2(SGLT2)抑制剂是一种新型的降糖药物,通过选择性抑制肾脏近曲小管 SGLT2,减少对葡萄糖重吸收,促进尿糖排泄从而降低血糖<sup>[4]</sup>,在抗炎、抗氧化应激、降低尿蛋白排泄方面起到重要作用。达格列净是一种高度选择性的 SGLT2 抑制剂,可有效治疗 2 型糖尿病并预防 DKD 的发生发展<sup>[5]</sup>。本研究观察糖尿病大鼠肾脏病变与 P38MAPK 信号通路及氧化应激的关系,以及达格列净的调控作用,初步探究达格列净对 DKD 的保护作用及机制。

## 1 材料与仪器

1.1 动物 取 SD 大鼠 28 只,7 周龄,雄性,SPF 级,体质量(150±10) g,购自南京青龙山实验动物繁殖场,饲养于弋矶山医院中心实验室动物房,温度 22~24℃,相对湿度 50%~70%,12 h 的明暗循环,自由进食标准食物和水。适应性喂养 1 周,测大鼠体质量(220±20) g 时,开始实验。所有实验方案均经弋矶山医院动物伦理委员会批准。

1.2 药物 达格列净(批号 MB3096),购自阿斯利康制药有限公司,用超纯水配制成水溶液。链脲霉素(批号 2196GR001)购自合肥志宏泰克生物技术有限公司。

1.3 试剂 PCR 扩增试剂盒(货号:K0171)、逆转录试剂盒(货号:K1622),购自于 Thermo Fisher Scientific;PCR 引物购自于北京六合华大基因科技有限公司;大鼠尿肌酐 ELISA 试剂盒(货号:FSEA3371)、大鼠尿蛋白 ELISA 试剂盒(货号:FSEA3370),购自于上海埃乐生物科技有限公司;SOD 试剂盒(货号:A001-3)、MDA 试剂盒(货号:A003-1),购自于南京建成有限公司;P38MAPK 蛋白抗体(产品编号:

ET1702-65)、磷酸化 P38MAPK 蛋白抗体(产品编号:ER1903-01),购自于华安生物;p22 蛋白抗体(产品编号:sc-271968)、p67 蛋白抗体(产品编号:sc-374510),购自 Santa Cruz Biotechnology;Nox2(pg91)蛋白抗体(产品编号:A1636),购自 ABclonal Technology;Actin 抗体(产品编号:BL005B),购自 biosharp;山羊抗兔 IgG,(产品编号:BL003A),购自 biosharp;山羊抗鼠 IgG,(产品编号:BA1050),购自 booster。

1.4 仪器 全自动组织脱水机(ASP300S 型,德国 Leica 公司);半自动转轮切片机(2245 型,德国 Leica 公司);正置荧光显微镜(日本 NIKON 80i 公司);垂直电泳仪、转膜仪(美国 Bio-rad 公司);凝胶成像系统(Tanon-2500,上海);高速低温离心机(Eppendorf 5810R)。

## 2 方法

2.1 分组、造模及给药 大鼠适应性饲养 1 周后,当质量均为(220±20) g 时,随机将大鼠等分为 4 组:①正常组(NC 组);②达格列净干预正常组(ND 组);③糖尿病组(DM 组);④达格列净干预糖尿病组(DD 组)。禁食 12 h 后,DM、DD 组大鼠均腹腔注射链脲佐菌素(STZ),按照体重给予链脲佐菌素 60 mg/kg(新鲜 STZ 溶于 0.1 m 柠檬酸盐缓冲液,pH 4.5),腹腔注射。72 h 后,通过血糖仪(One Touch Ultra,美国)测量大鼠空腹血糖(FBS)。若血糖>16.7 mmol/L,则造模成功。接着每天给 ND 组与 DD 组大鼠灌胃达格列净 1 mg/kg,持续 8 周,每周测 1 次体重,每两周在上午 9 点测非空腹血糖水平。

2.2 样本采集 末次给药后将大鼠置代谢笼内,收集各组大鼠的 24 h 尿液,-20℃保存待测各组大鼠尿蛋白含量。采血后注射水合氯醛处死大鼠,分离肾脏,生理盐水冲洗,滤纸吸干后称重并计算肾脏指数,肾脏指数=双侧肾脏质量/大鼠质量×100%。称重后将右肾置于 4%多聚甲醛固定用于检测肾脏组织病理形态,左肾置于-80℃保存。

## 2.3 实验方法

2.3.1 ELISA 法测尿蛋白及尿肌酐 根据大鼠尿蛋白 ELISA 试剂盒说明书测定尿液中微量白蛋白含量。

用酶标仪 450 nm 处测定样品的吸光度,进而计算出尿液中微量白蛋白含量 (ng/ml)。根据大鼠尿肌酐 ELISA 试剂盒说明书测定尿液中尿肌酐含量。用酶标仪 450 nm 处测定样品的吸光度,进而计算出尿液中肌酐含量 (ng/ml)。尿微量白蛋白含量除以尿肌酐含量,得出大鼠的尿白蛋白/肌酐。

2.3.2 WST-1 法检测肾脏组织和尿液 SOD 活性、TBA 法检测肾脏组织和尿液 MDA 含量 取大鼠左肾部分组织,制成 10% 匀浆,用 BCA 法测出各组蛋白浓度。根据大鼠 SOD 试剂盒说明书,测出各个标本在 450 nm 处的吸光度,进而计算出肾脏组织及尿液中 SOD 抑制率,从而计算出 SOD 活性。根据大鼠 MDA 试剂盒说明书,测出各个标本在 532 nm 处的吸光度,进而计算出肾脏组织及尿液中 MDA 含量。

2.3.3 Real-time PCR 检测 p22 phox、p67 phox、Nox2(pg91) mRNA 含量 取大鼠左肾部分组织,按照 TRIZOL 法提取大鼠肾脏组织总 RNA,测出各个样品在 260 nm 及 280 nm 处的吸光度,通过比值计算出 RNA 纯度,同时记录下 RNA 浓度。再利用总 RNA 逆转录合成 cDNA。PCR 引物序列如下:

P22phox	Forward:5'-GACGCTTCACGCGAGTGGTACT-3' Reverse:5'-CACGACCTCATCTGTCAGTGG-3'(485 bp)
P67phox	Forward:5'-CGAGGGAACACGCTGATAGA-3'; Reverse:5'-CTAAGGCACGCTGAGCTTCA-3'(740 bp)
Nox2(pg91)	Forward:5'-ATTCAGATGGAGGTGGGACA-3'; Reverse:5'-AATGGAGGCAAAGGGCGT-3'(310 bp)
GAPDH	Forward:5'-ATGGTCTACATGTTCCAGTA-3'; Reverse:5'-TCAGATCCACAACGGATACA-3'(590 bp)

以逆转录合成的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,反应条件为:95 °C 预变性 5 min,接着 95 °C 变性 10 s,56 °C 退火 20 s,72 °C 延伸 30 s,共循环 40 次。 $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 p22phox、p67 phox、Nox2(pg91) mRNA 相对表达量。

2.3.4 western blot 检测 p22 phox、p67 phox、Nox2(pg91)、P38MAPK、磷酸化 P38MAPK 蛋白含量 取左肾部分组织称重,置于离心管内,手术剪剪碎,按比例加入裂解液混匀(裂解液按 1 ml RIRA 加 10  $\mu$ l PMSF 配置),冰上研磨 30 min,4 °C,12 000 r/min,离

心 5 min,提取上清液。用 BCA 方法检测蛋白浓度。加入蛋白上样缓冲液,100 °C 水煮,10 min,使蛋白变性。SDS-PAGE 蛋白凝胶电泳:制胶,上样,80 V 恒压电泳 30 min 后,改为 120 V 恒压电泳 60 min。PVDF 转膜:115 V 恒压电泳 75 min。10% 脱脂牛奶室温封闭 2 h。按说明书将一抗稀释至一定倍数,将封闭结束的 PVDF 膜用 TBST 洗净后至于稀释液后的一抗中,4 °C 孵育过夜。用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。加入稀释后的二抗,常温下孵育 2 h。用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。超敏发光液显色,用全能型成像系统进行曝光,软件 Image J 计算各个条带的灰度值。将 Actin 或 P38MAPK 作为内参,p22phox/Actin、p67phox/Actin、Nox2(pg91)/Actin 及 p-p38MAPK/P38MAPK 条带灰度值比分别代表 p22 phox、p67 phox、Nox2(pg91)与 p-p38MAPK 蛋白相对表达量。

2.3.5 PAS 染色观察大鼠肾脏病理形态 取大鼠右肾组织用多聚甲醛固定 24 h,流水冲洗,去除组织中的多聚甲醛,进行脱水透明、石蜡包埋、切片,70 °C 加热 1 h 脱蜡。浸入高碘酸溶液 10 min,蒸馏水冲洗 5 min,加入 Schiff 染液反应 15 min,蒸馏水冲洗 10 min,苏木素复染 1 min,蒸馏水冲洗 10 min。1% 盐酸乙醇分化,蒸馏水冲洗至返蓝,无水乙醇快速脱水,经二甲苯使切片透明,中性树胶封固。光学显微镜下观察肾脏组织病理形态。

2.4 统计学方法 所有数据均以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用  $t$  检验。所有分析均使用 SPSS 21.0 软件进行。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 各组大鼠血糖及肾脏指数 与 NC 组比较,DM 组大鼠血糖升高 ( $P < 0.01$ );与 DM 组相比,DD 组大鼠的血糖明显下降 ( $P < 0.01$ )。与 NC 组比较,DM 组大鼠肾脏指数升高 ( $P < 0.01$ );与 DM 组相比,DD 组大鼠的肾脏指数明显下降 ( $P < 0.01$ )。见表 1、表 2。

表 1 各组大鼠血糖的比较

单位:mmol/L

组别	$n$	造模时血糖	造模成功时血糖	造模成功 2 周血糖	造模成功 4 周血糖	造模成功 6 周血糖	造模成功 8 周血糖
NC 组	7	6.06 $\pm$ 0.30	6.30 $\pm$ 0.26	6.16 $\pm$ 0.30	5.09 $\pm$ 0.22	5.81 $\pm$ 0.21	6.21 $\pm$ 0.11
ND 组	7	6.33 $\pm$ 0.30	6.36 $\pm$ 0.26	6.51 $\pm$ 0.18	5.44 $\pm$ 0.30	5.90 $\pm$ 0.23	6.14 $\pm$ 0.14
DM 组	7	5.83 $\pm$ 0.27	24.87 $\pm$ 1.28 <sup>a</sup>	25.61 $\pm$ 1.46 <sup>a</sup>	24.46 $\pm$ 1.58 <sup>a</sup>	25.37 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>	28.43 $\pm$ 1.51 <sup>a</sup>
DD 组	7	6.00 $\pm$ 0.37	27.09 $\pm$ 1.25	8.53 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>	7.76 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>	8.50 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	9.19 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>

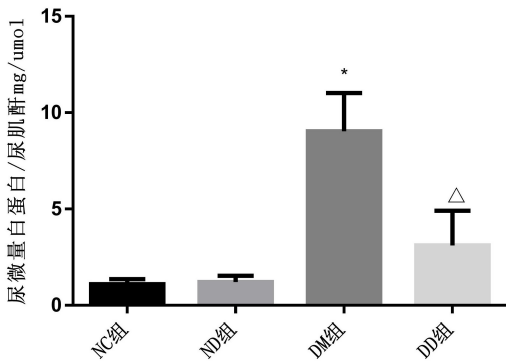
注:①表内计量资料数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示;②与 NC 组比较,a:  $P < 0.01$ ;与 DM 组比较,b:  $P < 0.01$ 。

表 2 各组大鼠肾脏质量/体重的比较

组别	n	肾脏指数
NC 组	7	0.0698 ± 0.0024
ND 组	7	0.0702 ± 0.0033
DM 组	7	0.1162 ± 0.0036 <sup>a</sup>
DD 组	7	0.0882 ± 0.0062 <sup>b</sup>

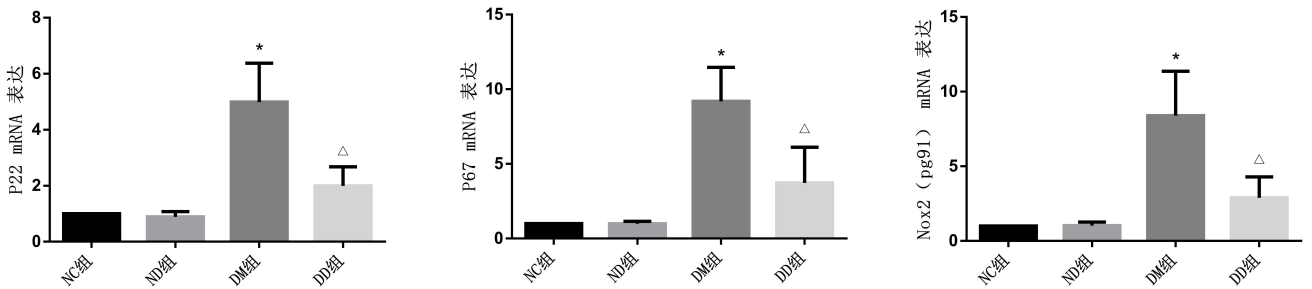
注:①表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示;②与 NC 组比较,a: $P < 0.01$ ;与 DM 组比较,b: $P < 0.01$ 。

3.2 各组大鼠尿白蛋白/肌酐 与 NC 组比较,DM 组大鼠尿白蛋白/肌酐升高( $P < 0.05$ );与 DM 组相比,DD 组大鼠的尿白蛋白/肌酐明显下降( $P < 0.05$ )。见图 1。



注:与 NC 组,\* $P < 0.05$ ;与 DM 组, $\Delta P < 0.05$ 。

图 1 各组大鼠尿微量白蛋白/尿肌酐



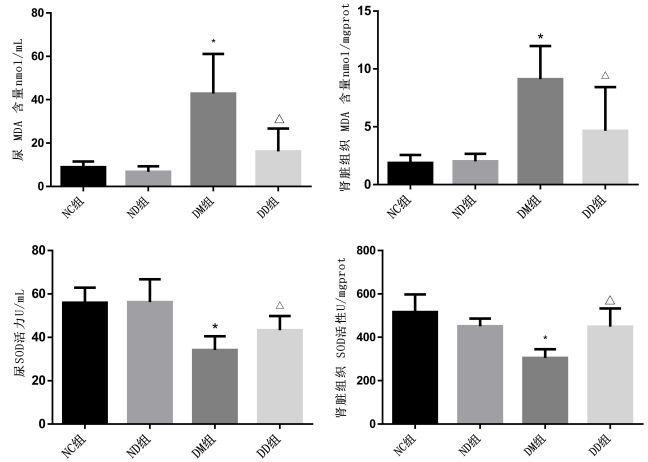
注:与 NC 组,\* $P < 0.01$ ;与 DM 组, $\Delta P < 0.01$ 。

图 3 各组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2(pg91) mRNA 表达

3.5 各组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2 (pg91)、磷酸化 P38MAPK 蛋白表达 与 NC 组比较,DM 组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2 (pg91)、磷酸化 P38MAPK 蛋白表达升高( $P < 0.05$ );与 DM 组相比,DD 组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2(pg91)、磷酸化 P38MAPK 蛋白表达下降( $P < 0.05$ )。见图 4。

3.6 各组大鼠肾脏组织病理形态比较 NC 组:肾小球体积正常,系膜区未见玻璃样物质沉积,毛细血管基

3.3 各组大鼠肾脏组织和尿液 SOD 活力及 MDA 含量 与 NC 组比较,DM 组大鼠肾脏组织及尿液中 SOD 活力降低,MDA 含量升高( $P < 0.05$ );与 DM 组相比,DD 组大鼠肾脏组织及尿液中 SOD 活力升高,MDA 含量下降( $P < 0.05$ )。见图 2。

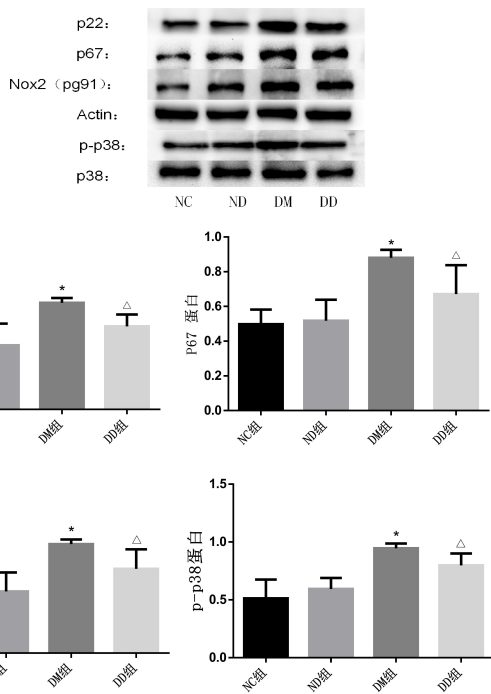


注:与 NC 组,\* $P < 0.05$ ;与 DM 组, $\Delta P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠肾脏组织、尿液 SOD 活力及中 MDA 含量

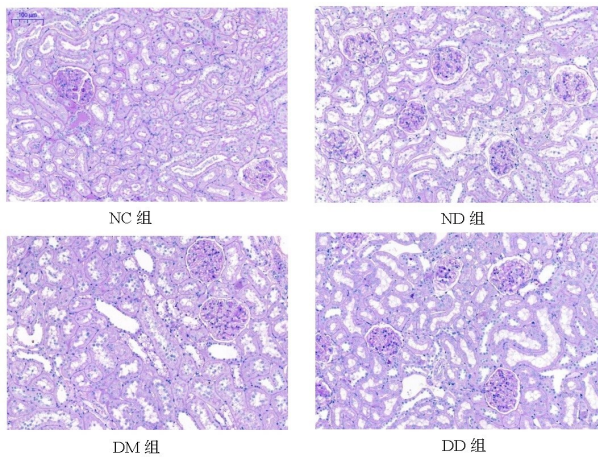
3.4 各组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2 (pg91)mRNA 表达 与 NC 组比较,DM 组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2 (pg91) mRNA 表达升高( $P < 0.01$ );与 DM 组相比,DD 组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2 (pg91) mRNA 表达下降( $P < 0.01$ )。见图 3。

底膜未见明显增厚,肾小管上皮未见明显变性等异常;ND 组:肾小球体积正常,系膜区未见玻璃样物质沉积,毛细血管基底膜未见明显增厚,肾小管上皮未见明显变性等异常;DM 组:肾小球体积普遍增大,系膜区见玻璃样物质沉积,毛细血管基底膜部分区域增厚,部分肾小管上皮可见空泡样变性;DD 组:肾小球体积尚正常,局部系膜区见玻璃样物质沉积,毛细血管基底膜局部区域增厚,个别肾小管上皮可见空泡样变性。见图 5。



注:与 NC 组,\* $P < 0.05$ ;与 DM 组, $\Delta P < 0.05$ 。

图 4 各组大鼠肾脏组织 p22phox、p67phox、Nox2(pg91)、磷酸化 P38MAPK 蛋白表达



注:病理图片放大 200 倍。

图 5 各组大鼠肾脏组织 PAS 染色

#### 4 讨论

DKD 是慢性肾功能衰竭的主要原因,其发病机制现在并不明确,涉及糖代谢异常、氧化应激、炎症反应等多种因素<sup>[6-7]</sup>。其中氧化应激在 DKD 发病过程中起重要作用<sup>[8]</sup>,而抑制氧化应激可改善 DKD<sup>[9]</sup>。肾脏组织中还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)磷酸氧化酶(NOX)家族是产生氧化应激主要来源。NOX 由膜结合亚基(gp91phox 和 p22phox)和胞质亚基(p47phox、p40phox、p67phox 和 GTPase rac1 或 rac2)组成<sup>[10]</sup>。NOX 亚单位的过表达与活性氧产生有关,研究发现 Nox2 与跨膜亚基 p22phox、p67phox 是氧化

还原反应中  $H_2O_2$  的来源<sup>[11]</sup>。越来越多的证据表明 NOX 诱导的氧化应激在 DKD 的发生和发展中起着关键作用<sup>[12]</sup>。本研究中糖尿病大鼠肾脏组织中 p22phox、p67phox、Nox2(pg91) mRNA 和蛋白的表达明显增高,同时肾脏及尿液中 SOD 活性明显降低,MDA 含量则显著升高,表明氧化应激可能参与了 DKD 的发生发展。

SGLT2 负责近端肾小管中段葡萄糖的重吸收,SGLT2 抑制剂可降低葡萄糖重吸收率和糖尿阈值,根据血浆葡萄糖浓度增加葡萄糖排泄<sup>[13]</sup>。同时研究表明 SGLT2 抑制剂有明确的肾脏保护作用。SGLT2 抑制剂抑制钠离子在近端小管重吸收,使得远端小管中尿液钠离子浓度升高,从而刺激致密斑,通过管球反馈(TGF)收缩入球动脉,降低肾小球内压,从而改善 2 型糖尿病肾脏超滤状态<sup>[14-15]</sup>。有研究显示达格列净可以降低 24 h 尿蛋白、白蛋白/肌酐比(UACR)、尿酸,保持 GFR 水平稳定<sup>[16-18]</sup>。Terami N 等<sup>[19]</sup>的研究表明达格列净能改善 DKD 的特征性变化,减少小鼠的尿蛋白、高血糖和  $\beta$  细胞损伤。本研究中服用达格列净治疗 8 周的糖尿病大鼠较未服用药物的糖尿病大鼠尿蛋白、肾脏指数及肾脏组织病理形态明显改善,表明达格列净有保护肾脏的作用。

达格列净防治糖尿病肾脏病的机制尚不十分明确,可能涉及抑制氧化应激及 P38MAPK 信号通路。P38MAPK 主要存在于细胞质内,属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员,正常生理状况下活性较低,可调控基因表达、抗氧化损伤等。P38MAPK 结构上存在双磷酸化位点,可以被特异性 MAPK 激酶选择性激活,从而诱导 P38MAPK 磷酸化发挥生物活性<sup>[20-21]</sup>。P38MAPK 信号通路可能参与 DKD 的发展。研究发现,在大鼠腹腔内注射白蛋白,2 d 后足细胞损伤,足突消失,P38MAPK 磷酸化增强,P38MAPK 信号通路的激活可能导致了肾脏足细胞损伤<sup>[22]</sup>。足细胞衍生的微粒(MP)也可通过 P38MAPK 促进近端小管纤维化,介导 DKD 的发展<sup>[23]</sup>。高血糖环境下,ROS 过量产生,会在肾脏组织细胞中诱导氧化应激并激活 P38MAPK 信号通路<sup>[24-25]</sup>。氧化应激诱导激活的 P38MAPK 可以活化细胞凋亡因子 Caspase-3 引起足细胞凋亡<sup>[26]</sup>。由此可见 P38MAPK 信号通路在糖尿病肾脏病发病机制中起到重要作用。P38MAPK 信号通路也可以介导氧化应激的产生,从而参与 DKD 的发展<sup>[27-28]</sup>。本研究中糖尿病大鼠肾脏组织氧化应激增强,P38MAPK 信号通路被激活,达格列净治疗后,糖尿病大鼠血糖下降,肾脏组织氧化应激及 P38MAPK 信号通路被抑制。达格列净可能通过降低血糖,抑制 P38MAPK 信号通路及氧化应激,从而保护糖尿病肾脏。达格列净改善 DKD 的确切机制,需要进一步研

究。

参考文献:

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 315-409.
- [2] Ha HJ, Hwang IA, Park JH, et al. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008, 82(Suppl 1): S42-45.
- [3] Sakai N, Wada T, Furuichi K, et al. Involvement of extracellular signal-regulated kinase and p38 in human diabetic nephropathy[J]. *Am J Kidney Dis*, 2005, 45(1): 54-65.
- [4] Gallo LA, Wright EM, Vallon V. Probing SGLT2 as a therapeutic target for diabetes: basic physiology and consequences [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2015, 12(2): 78-89.
- [5] Neuen BL, Young T, Heerspink HJL, et al. SGLT2 inhibitors for the prevention of kidney failure in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(11): 845-854.
- [6] Shen HJ, Wang W. Effect of glutathione liposomes on diabetic nephropathy based on oxidative stress and polyol pathway mechanism [J]. *J Liposome Res*, 2021, 31(4): 317-325.
- [7] Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy [J]. *Cardiovasc Ther*, 2012, 30(1): 49-59.
- [8] Araki E, Nishikawa T. Oxidative stress: A cause and therapeutic target of diabetic complications [J]. *J Diabetes Investig*, 2010, 1(3): 90-96.
- [9] Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes [J]. *Diabetes*, 2008, 57(6): 1446-1454.
- [10] Jha JC, Banal C, Chow BS, et al. Diabetes and kidney disease: role of oxidative stress [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 25(12): 657-684.
- [11] 周宗灿. 氧化还原信号和氧化应激/还原应激[J]. 毒理学杂志, 2015, 29(1): 1-14.
- [12] Gorin Y, Wauquier F. Upstream regulators and downstream effectors of NADPH oxidases as novel therapeutic targets for diabetic kidney disease [J]. *Molecules and cells*, 2015, 38(4): 285-96.
- [13] Ghezzi C, Loo DDF, Wright EM. Physiology of renal glucose handling via SGLT1, SGLT2 and GLUT2 [J]. *Diabetologia*, 2018, 61(10): 2087-2097.
- [14] Castañeda AM, Dutra-Rufato A, Juarez MJ, et al. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors (SGLT2i): renal implications [J]. *Int Urol Nephrol*, 2021, 53(2): 291-299.
- [15] Brady JA, Hallow KM. Model-Based evaluation of proximal sodium reabsorption through SGLT2 in health and diabetes and the effect of inhibition with canagliflozin [J]. *J Clin Pharmacol*, 2018, 58(3): 377-385.
- [16] 袁小利, 王守俊. 达格列净对 2 型糖尿病肾病患者的临床疗效[J]. 河南医学研究, 2020, 29(11): 1969-1971.
- [17] Fioretto P, Stefansson BV, Johnsson E, et al. Dapagliflozin reduces albuminuria over 2 years in patients with type 2 diabetes mellitus and renal impairment [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(9): 2036-2039.
- [18] Mosenzon O, Wiviott SD, Cahn A, et al. Effects of dapagliflozin on development and progression of kidney disease in patients with type 2 diabetes: an analysis from the DECLARE-TIMI 58 randomised trial [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(8): 606-617.
- [19] Terami N, Ogawa D, Tachibana H, et al. Long-term treatment with the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, dapagliflozin, ameliorates glucose homeostasis and diabetic nephropathy in db/db mice [J]. *PloS one*, 2014, 9(6): e100777.
- [20] Goldstein DM, Kuglstaner A, Lou Y, et al. Selective p38alpha inhibitors clinically evaluated for the treatment of chronic inflammatory disorders [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(6): 2345-2353.
- [21] Cuadrado A, Nebreda AR. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling [J]. *Biochem J*, 2010, 429(3): 403-417.
- [22] Yoshida S, Nagase M, Shibata S, et al. Podocyte injury induced by albumin overload in vivo and in vitro: involvement of TGF-beta and p38 MAPK [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2008, 108(3): e57-68.
- [23] Munkonda MN, Akbari S, Landry C, et al. Podocyte-derived microparticles promote proximal tubule fibrotic signaling via p38 MAPK and CD36 [J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7(1): 1432206.
- [24] Ahad A, Ahsan H, Mujeeb M, et al. Gallic acid ameliorates renal functions by inhibiting the activation of p38 MAPK in experimentally induced type 2 diabetic rats and cultured rat proximal tubular epithelial cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 240: 292-303.
- [25] Zuo L, Du Y, Lu M, et al. Atorvastatin inhibits hyperglycemia-induced expression of osteopontin in the diabetic rat kidney via the p38 MAPK pathway [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(4): 2551-2558.
- [26] 孙文, 冯丽园, 赵宗江, 等. 三七总皂苷干预糖尿病肾病大鼠氧化应激及足细胞凋亡机制的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(5): 1062-1067.
- [27] Schattauer SS, Bedini A, Summers F, et al. Reactive oxygen species (ROS) generation is stimulated by kappa opioid receptor activation through phosphorylated c-Jun N-terminal kinase and inhibited by p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(45): 16884-16896.
- [28] Coulthard LR, White DE, Jones DL, et al. p38(MAPK): stress responses from molecular mechanisms to therapeutics [J]. *Trends Mol Med*, 2009, 15(8): 369-379.

收稿日期: 2021-11-12; 修回日期: 2021-12-15