

白藜芦醇对高糖刺激下人肾小管上皮细胞 发生EMT的作用

吴海江¹ 邓新娜² 史永红¹ 郭庆军¹ 李宏博¹ 彭金凯³ 庞磊³ 崔桂鹏³ 段惠军^{1*}

(¹河北医科大学病理学教研室, 河北省肾脏病重点实验室, 石家庄 050017;

²河北省人民医院肿瘤四科, 石家庄 050051; ³河北医科大学基础医学院, 石家庄 050017)

摘要 该文研究了白藜芦醇及其下游信号分子沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)对高糖培养条件下人肾小管上皮细胞(HK-2)转化的作用和机制。体外常规培养HK-2细胞, 采用Western blot检测平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、E-钙黏着蛋白(E-cadherin)及信号蛋白SIRT1、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 协同刺激因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α , PGC-1 α)的蛋白表达, 采用细胞免疫荧光对SIRT1的表达进行检测。与高糖刺激0 h组相比, 高糖刺激12, 24, 48 h均导致HK-2细胞SIRT1蛋白明显减少, 且随时间呈下降趋势; 低糖培养细胞0, 12, 24, 48 h的SIRT1蛋白表达没有明显差异。白藜芦醇明显提高高糖培养条件下HK-2细胞的SIRT1表达, 而SIRT1特异性抑制剂EX527能够减弱白藜芦醇的作用。进一步的研究表明, 白藜芦醇能够明显增加HK-2细胞中E-钙黏着蛋白的表达, 抑制高糖导致的 α -SMA表达升高, 而EX527对高糖诱导的HK-2细胞转分化没有显著影响。此外, 研究发现, 白藜芦醇能够明显增加高糖刺激下HK-2细胞PGC-1 α 蛋白表达。该研究结果提示, 白藜芦醇可能通过SIRT1和PGC-1 α 信号通路抑制了高糖诱导的HK-2细胞转化过程。

关键词 白藜芦醇; 肾小管上皮细胞; HK-2细胞; 上皮细胞-间充质细胞转化; SIRT1; PGC-1 α

Role of Resveratrol on High Glucose-induced Epithelial to Mesenchymal Transition of Human Renal Proximal Tubular Epithelial Cells

Wu Haijiang¹, Deng Xinna², Shi Yonghong¹, Guo Qingjun¹, Li Hongbo¹,

Peng Jinkai³, Pang Lei³, Cui Guipeng³, Duan Huijun^{1*}

(¹Department of Pathology, Hebei Medical University, Key Laboratory of Kidney Diseases of Hebei Province, Shijiazhuang 050017, China; ²Department of Oncology & Immunotherapy, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China;

³College of Basic Medical Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract We investigated the role of resveratrol and SIRT1 signaling pathway on epithelial to mesenchymal transition of human renal proximal tubular epithelial cells (HK-2) cultured with high glucose. HK-2 cells were cultured *in vitro*. The protein levels of α -SMA, E-cadherin, SIRT1 and PGC-1 α were determined by Western blot. The expression level of SIRT1 was also examined by immunofluorescence assay. Compared with 0 h, the exposure

收稿日期: 2015-06-24 接受日期: 2015-09-29

国家自然科学基金(批准号: 81370825)、河北省卫生计生委医学科学研究课题计划项目(批准号: ZL20140063)、2014年河北省高等学校科学技术研究项目(批准号: Z2014053)和河北医科大学大学生创新性实验计划项目(批准号: USIP201564A)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0311-86265734, E-mail: duanhuijun999@163.com

Received: June 24, 2015 Accepted: September 29, 2015

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81370825), Medical Research Program of the Hebei Provincial Health and Family Planning Commission (Grant No.ZL20140063), Research Program of Science and Technology at Universities of Hebei (Grant No.Z2014053) and College Students' Innovative Experimental Program of Hebei Medical University (Grant No.USIP201564A)

*Corresponding author. Tel: +86-311-86265734, E-mail: duanhuijun999@163.com

网络出版时间: 2015-11-12 12:45:04

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20151112.1245.012.html>

of HK-2 cells to high concentration of glucose resulted in decreased protein levels of SIRT1 in a time-dependent manner. But HK-2 cells incubated with low concentrations of glucose for various periods didn't show a time-dependent decrease in SIRT1 expression. Resveratrol treatment resulted in increased protein level of SIRT1. This effect was markedly diminished by the addition of EX527, an inhibitor of SIRT1. Furthermore, resveratrol treatment also resulted in increased protein level of E-cadherin, along with a down-regulation of α -SMA, although EX527 alone had no effect on high glucose-induced EMT of HK-2 cells. In addition, resveratrol treatment also prevented the decrease of PGC-1 α in HK-2 cells cultured with high glucose. Taken together, these data demonstrated that resveratrol could prevent high glucose-induced EMT of human renal proximal tubular epithelial cells via activation of SIRT1 and PGC-1 α signaling pathway.

Keywords resveratrol; renal proximal tubular epithelial cells; HK-2 cells; epithelial to mesenchymal transition; SIRT1; PGC-1 α

糖尿病是严重威胁人类健康的杀手之一。根据国际糖尿病联盟(international diabetes federation, IDF)2013年的最新统计, 中国糖尿病的患病人数为9 840万, 居全球首位, 预计到2035年, 中国的糖尿病患者人数将达到1.43亿。糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病较为常见的并发症, 其病理变化呈慢性进行性进展, 最终导致终末期肾衰竭和患者死亡。糖尿病肾病晚期常表现为肾小球硬化和肾间质纤维化, 其中肾小管上皮细胞-间充质细胞转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肾间质纤维化的重要原因之一^[1]。白藜芦醇(resveratrol, RSV)是一种广泛存在于葡萄、虎杖等植物中的天然多酚类物质, 化学名为3,4',5-三羟基二苯乙烯(3,4',5-trihydroxystilbene), 具有抗炎、抗氧化应激、抗肿瘤等作用。近年的研究表明, 白藜芦醇可以通过多种途径发挥肾脏保护作用, 阻止糖尿病肾病的发生和发展。例如, 白藜芦醇能够明显抑制db/db糖尿病小鼠肾脏的炎症反应和肾小球系膜细胞凋亡, 改善该小鼠尿蛋白水平, 从而防止糖尿病肾病的发生^[2]。白藜芦醇还具有抑制NADPH氧化酶活性的作用。白藜芦醇通过抑制NADPH氧化酶p22(phox)和p47(phox)亚基表达, 降低NADPH氧化酶活性, 减少细胞内活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的生成, 从而抑制高糖导致的肾小管上皮细胞增殖和纤连蛋白(fibronectin)表达^[3]。进一步的研究还显示, 白藜芦醇是沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)的体外天然激活剂, 白藜芦醇通过增加SIRT1活性发挥其作用^[4]。目前, 有关白藜芦醇及其下游信号分子SIRT1在肾小管上皮细胞发生EMT中的作用研究未见报道。因此, 本文以人肾小管上皮细胞HK-2细胞为研究对象, 观察白藜芦

醇及SIRT1与高糖刺激下HK-2细胞发生EMT的关系以及相关作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料及试剂

人肾小管上皮细胞从美国标准生物品收藏中心获得。白藜芦醇为MedChem Express(MCE)公司产品。鼠抗SIRT1抗体和兔抗 α -SMA、E-钙黏着蛋白和 β -肌动蛋白多克隆抗体均购自Abcam公司。兔抗PGC-1 α 多克隆抗体购自Novus Biologicals公司。FITC标记荧光二抗购自Earthox公司。辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔IgG为北京中杉金桥公司产品。DMEM低糖培养基购自Gibco-BRL公司。SIRT1抑制剂EX527、D-葡萄糖和甘露醇均为Sigma公司产品。聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene difluoride, PVDF)为Milipore公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 HK-2细胞培养 用含10%胎牛血清和双抗的DMEM培养液培养HK-2细胞, 培养条件为5% CO₂、37 °C。采用胰蛋白酶消化法传代, 3~4 d传代1次。待HK-2细胞达70%~80%汇合后, 用无血清培养基同步12~24 h。将细胞分为5组: 低糖组(5.5 mmol/L D-葡萄糖, NG)、甘露醇对照组(5.5 mmol/L D-葡萄糖+24.5 mmol/L甘露醇, M)、高糖组(30 mmol/L D-葡萄糖, HG)、高糖加白藜芦醇组(30 mmol/L D-葡萄糖+50 μ g/mL白藜芦醇, HG+RSV)和高糖加SIRT1抑制剂EX527组(30 mmol/L D-葡萄糖+10 μ mol/L EX527, HG+EX527)^[5-6]。按照分组对细胞进行药物干预后, 分别于干预后0, 12, 24, 48 h收集细胞, 进行以下观察。

1.2.2 提取总蛋白和Western blot检测 将HK-2细胞用冰冷的PBS洗涤3次, 加入冰冷的裂解液300 μ L, 冰浴30 min, 于4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心20 min, 上清液即为细胞总蛋白样品。采用DAB法测定蛋白质样品浓度。将蛋白质样品变性后置于-80 $^{\circ}$ C保存。取细胞裂解蛋白40 μ g, 经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳后电转移至PVDF膜, 5%脱脂奶粉37 $^{\circ}$ C封闭PVDF膜2 h, 分别加入SIRT1(1:1 000)、 α -SMA(1:1 000)、E-钙黏着蛋白(1:1 000)、PGC-1 α (1:1 000)和 β -肌动蛋白(1:2 000)等抗体, 4 $^{\circ}$ C过夜。洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠或山羊抗兔二抗(1:3 000), 室温孵育2 h。洗膜后加入ECL化学发光剂, ODYSSEY远红外双色荧光成像系统显影(奥德赛公司)。应用Image J软件对Western条带信号强度进行定量分析。

1.2.3 细胞免疫荧光 将HK-2细胞接种于6孔板内的盖玻片上, 分组刺激48 h。弃上清, PBS洗片3次。用新配制的4%多聚甲醛溶液室温固定细胞10 min。PBS洗片3次, 用0.2%的Triton X-100通透细胞10 min。用含3%山羊血清封闭液室温封闭非特异结合位点

30 min后, 加入鼠抗SIRT1(1:200)抗体于4 $^{\circ}$ C孵育过夜。PBS洗片3次, FITC标记荧光二抗(1:150)室温避光孵育1 h。PBS洗片3次, 再加入荧光染料碘化丙啶(PI), 于37 $^{\circ}$ C条件下处理10 min进行细胞核复染。用树胶封固后, 于荧光显微镜下观察荧光染色结果。

1.3 统计学分析

实验结果采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 用SPSS 18.0统计软件进行数据分析, 采用单因素方差分析进行组间比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低糖和高糖培养对HK-2细胞SIRT1表达的影响

分别在低糖培养基(5.5 mmol/L D-葡萄糖)和高糖培养基(30 mmol/L D-葡萄糖)中培养HK-2细胞0, 12, 24, 48 h。如图1A所示, 在低糖培养条件下, HK-2细胞在0, 12, 24, 48 h等各时间点的SIRT1蛋白表达没有明显差异。如图1B所示, 在高糖培养条件下, 随时间延长, 高糖刺激导致SIRT1蛋白明显减少:

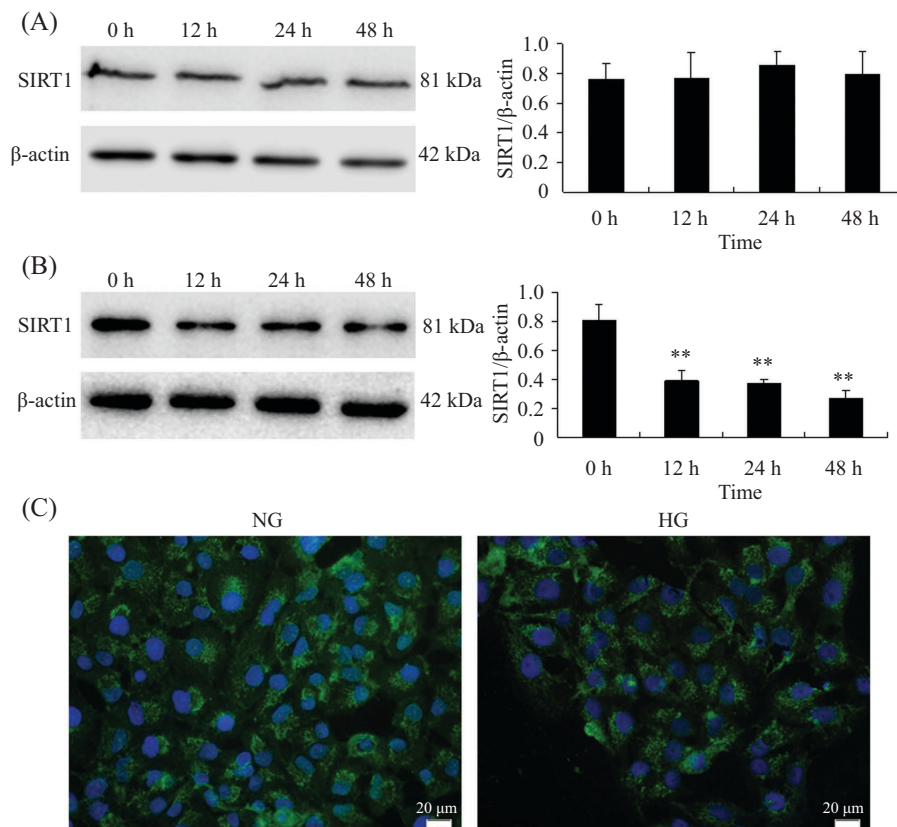


图1 低糖和高糖培养对HK-2细胞SIRT1表达的影响

Fig.1 Effect of low glucose and high glucose on SIRT1 expression in HK-2 cells

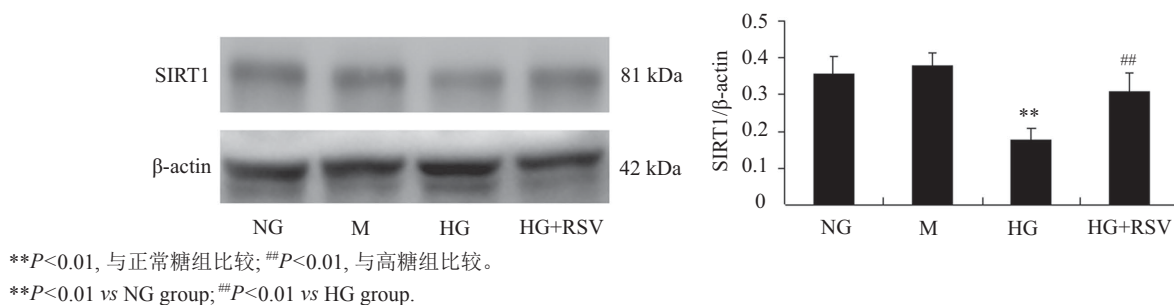


图2 白藜芦醇对高糖刺激下肾小管上皮细胞SIRT1表达的影响

Fig.2 Effect of resveratrol on SIRT1 expression in HK-2 cells

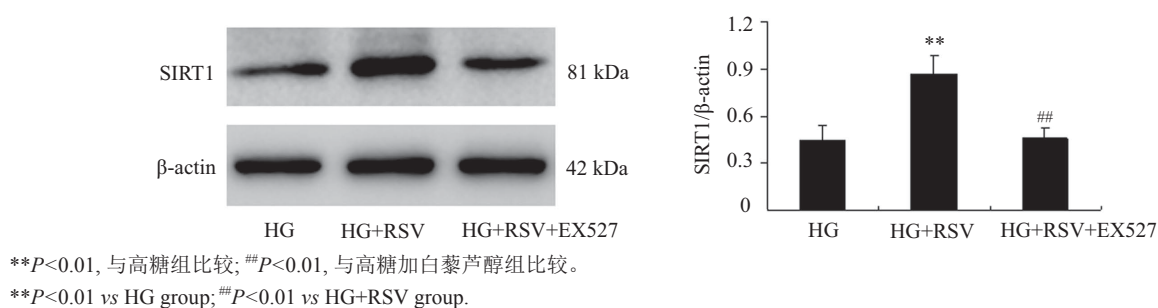


图3 EX527对高糖刺激下肾小管上皮细胞SIRT1表达的影响

Fig.3 Effect of EX527 on resveratrol-induced SIRT1 expression in HK-2 cells

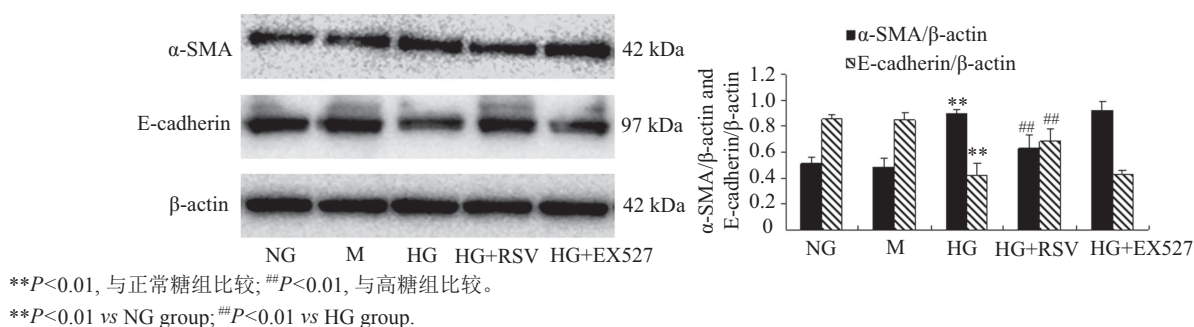


图4 白藜芦醇和EX527对高糖刺激下肾小管上皮细胞转化的影响

Fig.4 Effect of resveratrol and EX527 on high glucose-induced EMT in HK-2 cells

高糖刺激12 h开始出现SIRT1蛋白表达减少, 至少持续48 h以上($P < 0.01$)。细胞免疫荧光结果显示, 与低糖培养条件相比, 高糖刺激HK-2细胞48 h的SIRT1蛋白表达明显减少(图1C)。此结果提示, 高糖培养条件下, HK-2细胞的SIRT1表达明显降低。

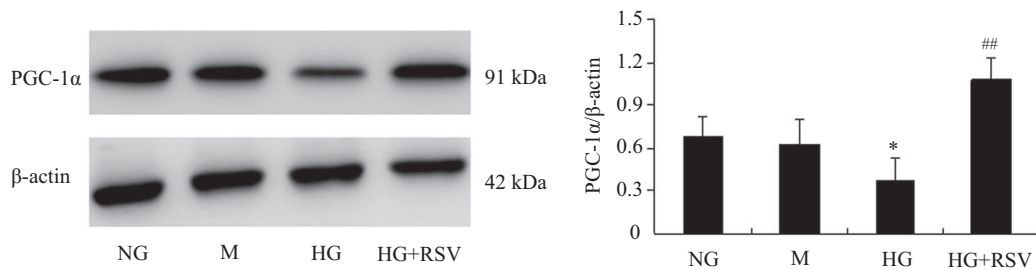
2.2 白藜芦醇对高糖刺激下肾小管上皮细胞SIRT1表达的影响

常规培养HK-2细胞, 同步后按照分组(NG组、M组、HG组和HG+RSV组)分别培养48 h。白藜芦醇预刺激后2 h给予高糖刺激。Western blot检测结果显示(图2), 与NG组相比, 高糖培养(HG组)HK-2细胞48 h的SIRT1蛋白表达明显降低($P < 0.01$)。与HG组相比, 白藜芦醇(HG+RSV组)能够明显改善高糖刺激下HK-2细胞SIRT1蛋白表达($P < 0.01$)。NG组和渗

透压对照M组之间SIRT1蛋白表达无显著差异。此结果提示, 白藜芦醇能够提高高糖培养条件下HK-2细胞的SIRT1表达。

2.3 EX527对高糖刺激下肾小管上皮细胞SIRT1表达的影响

常规培养HK-2细胞, 同步后按照分组分别培养48 h。分组如下: 高糖组(HG组)、高糖+白藜芦醇(HG+RSV)、高糖+白藜芦醇+SIRT1抑制剂EX527组(HG+RSV+EX527)。白藜芦醇和/或EX527(10 $\mu\text{mol/L}$)预刺激2 h后给予高糖刺激。Western blot检测结果显示, 与HG+RSV组相比, HG+RSV+EX527组的HK-2细胞SIRT1蛋白表达明显下降($P < 0.01$)(图3)。此结果提示, 在高糖刺激下的HK-2细胞中, SIRT1特异性抑制剂EX527能够阻止白藜芦醇对SIRT1激活作用。



* $P < 0.05$, 与正常糖组比较; ## $P < 0.01$, 与高糖组比较。

* $P < 0.05$ vs NG group. ## $P < 0.01$ vs HG group.

图5 白藜芦醇对高糖刺激下肾小管上皮细胞PGC-1α表达的影响

Fig.5 Effect of resveratrol on PGC-1α expression in HK-2 cells

2.4 白藜芦醇和EX527对高糖刺激下肾小管上皮细胞发生EMT的影响

常规培养HK-2细胞,同步后按照分组(NG组、M组、HG组、HG+RSV组和HG+EX527组)分别培养48 h。白藜芦醇或EX527(10 μmol/L)预刺激2 h后给予高糖刺激。Western blot检测结果(图4)显示,与NG组相比,高糖培养(HG组)HK-2细胞α-SMA蛋白表达升高($P < 0.01$)、E-钙黏着蛋白表达明显降低($P < 0.01$);与HG组相比,白藜芦醇能够明显降低高糖刺激下HK-2细胞α-SMA蛋白表达($P < 0.01$)、增加E-钙黏着蛋白表达($P < 0.01$);HG组和EX527组之间的α-SMA($P > 0.05$)和E-钙黏着蛋白($P > 0.05$)蛋白表达无显著差异。NG组和渗透压对照M组之间的α-SMA和E-钙黏着蛋白表达无显著差异。此结果提示,白藜芦醇能够抑制高糖刺激导致的HK-2细胞发生EMT,而EX527不能够抑制高糖刺激导致的HK-2细胞转化。

2.5 白藜芦醇对高糖刺激下肾小管上皮细胞PGC-1α表达的影响

常规培养HK-2细胞,同步后按照分组(NG组、M组、HG组和HG+RSV组)分别培养48 h。白藜芦醇预刺激2 h后给予高糖刺激。Western blot检测结果显示,与正常糖组(NG组)相比,高糖培养48 h(HG组)HK-2细胞PGC-1α蛋白表达降低($P < 0.05$)。与HG组相比,白藜芦醇能够明显增加高糖刺激下HK-2细胞PGC-1α蛋白表达($P < 0.01$)(图5)。NG组和渗透压对照M组之间PGC-1α蛋白表达无显著差异。此结果提示,白藜芦醇对HK-2细胞EMT的抑制作用可能是通过增加PGC-1α表达实现的。

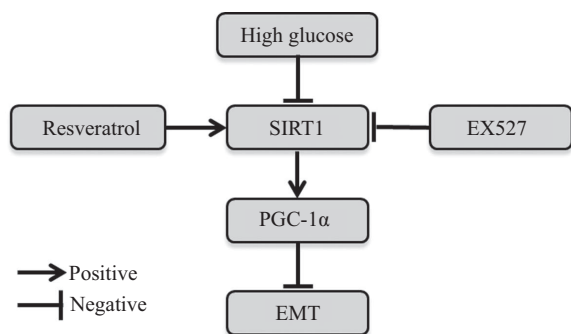
3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病患者发生终末期肾病和

死亡的重要原因之一,肾脏纤维化是其常见特征。越来越多的研究结果表明,肾小管上皮细胞发生EMT是肾脏发生纤维化的重要原因^[7]。我们前期的研究表明,高糖培养导致肾小管上皮细胞产生过量ROS并分泌TGF-β1,从而导致肾小管上皮细胞发生EMT^[8]。动物实验结果也显示,抑制肾小管上皮细胞EMT可以明显改善小鼠血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)水平,从而保护肾脏功能^[9]。由此可见,有效阻断或延缓肾小管上皮细胞发生EMT可能成为防治糖尿病肾病的新方法。

白藜芦醇是广泛存在于中草药和植物中的天然成分,其对糖尿病及糖尿病肾病等并发症的治疗作用已经成为研究热点。研究发现,给予糖尿病小鼠口服白藜芦醇,能够改善其肌酐清除率、肾脏超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶的活性^[10]。可见,白藜芦醇的肾脏保护作用可能是通过抗氧化应激作用实现的。本研究发现,高糖条件下培养的肾小管上皮细胞出现EMT改变(α-SMA蛋白表达升高、E-钙黏着蛋白表达降低),而白藜芦醇能够明显降低α-SMA蛋白表达、升高E-钙黏着蛋白表达,从而防止肾小管上皮细胞发生EMT。此外,本研究还发现,EX527不能够抑制高糖刺激导致的HK-2细胞EMT。因此,本实验结果提示,白藜芦醇可以防止肾小管上皮细胞发生EMT,具有明显的肾脏保护功能。

SIRT1是依赖NAD⁺的组蛋白去乙酰基酶,参与细胞凋亡、分化、衰老的调节过程。研究表明,白藜芦醇可以通过激活SIRT1发挥肾脏保护作用。例如,在db/db糖尿病小鼠肾脏以及高糖培养的系膜细胞中,p-AMPK以及SIRT1表达明显降低,而白藜芦醇能够通过AMPK-SIRT1途径减少高糖导致的肾系膜细胞氧化应激和凋亡^[2]。本研究发现,高糖条件下

图6 白藜芦醇/SIRT1/PGC-1 α 信号通路示意图Fig.6 Diagram of resveratrol/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway

培养的肾小管上皮细胞SIRT1蛋白表达明显降低,且随时间呈下降趋势;低糖条件下培养的肾小管上皮细胞SIRT1蛋白表达随培养时间延长无明显变化;白藜芦醇能够明显阻止高糖对SIRT1蛋白表达的抑制作用。此外,本研究还发现,SIRT1特异性抑制剂能够消除白藜芦醇对SIRT1的激活作用。因此,本研究结果提示,白藜芦醇防止高糖诱导的肾小管上皮细胞发生EMT功能可能是通过激活SIRT1实现的。

过氧化物酶体增殖物激活受体协同刺激因子-1 α 是调控线粒体生物合成、骨骼肌纤维类型转换、肝糖异生和脂肪酸氧化等过程的关键因子。研究显示,SIRT1过表达或白藜芦醇能够抑制醛固酮诱导的足细胞线粒体功能失常和足细胞损伤,这个过程是通过调节PGC-1 α 活性实现的。进一步的研究描述了线粒体SIRT1-PGC-1 α 信号通路与足细胞损伤的关系:醛固酮等刺激因素能够抑制SIRT1-PGC-1 α 的活性,使足细胞线粒体功能障碍,最后导致足细胞脱离基底膜、肾小球硬化^[11]。此外,SIRT1激活剂SRT1720能够通过激活SIRT1和PGC-1 α 脱乙酰化,促进体外培养的肾小管上皮细胞线粒体生物合成,从而改善叔丁基过氧化氢引起的肾小管功能损伤^[12]。由此可见,PGC-1 α 可能在糖尿病肾病发病过程中发挥重要作用。本研究发现,高糖条件下培养的肾小管上皮细胞PGC-1 α 蛋白表达明显降低,白藜芦醇能够明显改善高糖对PGC-1 α 蛋白表达的抑制作用。因此,本实验结果提示,白藜芦醇防止高糖诱导的肾小管上皮细胞发生EMT作用可能是通过激活SIRT1/PGC-1 α 信号通路实现的。

综上所述,白藜芦醇能够抑制高糖诱导的肾

小管上皮细胞发生EMT,这种作用可能是通过激活SIRT1/PGC-1 α 信号通路实现的(图6)。因此,推测白藜芦醇对肾脏细胞具有保护作用,有可能成为防治糖尿病肾病的新型药物。

参考文献 (References)

- 1 Thakur S, Viswanadhapalli S, Kopp JB, Shi Q, Barnes JL, Block K, *et al.* Activation of AMP-activated protein kinase prevents TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition and myofibroblast activation. *Am J Pathol* 2015; 185(8): 2168-80.
- 2 Kim MY, Lim JH, Youn HH, Hong YA, Yang KS, Park HS, *et al.* Resveratrol prevents renal lipotoxicity and inhibits mesangial cell glucotoxicity in a manner dependent on the AMPK-SIRT1-PGC1 α axis in db/db mice. *Diabetologia* 2013; 56(1): 204-17.
- 3 Zhang L, Pang S, Deng B, Qian L, Chen J, Zou J, *et al.* High glucose induces renal mesangial cell proliferation and fibronectin expression through JNK/NF- κ B/NADPH oxidase/ROS pathway, which is inhibited by resveratrol. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44(4): 629-38.
- 4 Diaz-Ruiz C, Rodriguez-Perez AI, Beiroa D, Rodriguez-Pallares J, Labandeira-Garcia JL. Reciprocal regulation between sirtuin-1 and angiotensin-II in the substantia nigra: Implications for aging and neurodegeneration. *Oncotarget* 2015; 6(29): 26675-89.
- 5 Jia Y, Zheng Z, Wang Y, Zhou Q, Cai W, Jia W, *et al.* SIRT1 is a regulator in high glucose-induced inflammatory response in RAW264.7 cells. *PLoS One* 2015; 10(3): e0120849.
- 6 Xia N, Forstermann U, Li H. Resveratrol as a gene regulator in the vasculature. *Curr Pharm Biotechnol* 2014; 15(4): 401-8.
- 7 Xiao Z, Chen C, Meng T, Zhang W, Zhou Q. Resveratrol attenuates renal injury and fibrosis by inhibiting transforming growth factor- β pathway on matrix metalloproteinase 7. *Exp Biol Med* (Maywood) 2015; pii: 1535370215598401.
- 8 Wei J, Shi Y, Hou Y, Ren Y, Du C, Zhang L, *et al.* Knockdown of thioredoxin-interacting protein ameliorates high glucose-induced epithelial to mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells. *Cell Signal* 2013; 25(12): 2788-96.
- 9 Wu HJ, Yiu WH, Li RX, Wong DW, Leung JC, Chan LY, *et al.* Mesenchymal stem cells modulate albumin-induced renal tubular inflammation and fibrosis. *PLoS One* 2014; 9(3): e90883.
- 10 Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812(7): 719-31.
- 11 Yuan Y, Huang S, Wang W, Wang Y, Zhang P, Zhu C, *et al.* Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α ameliorates mitochondrial dysfunction and protects podocytes from aldosterone-induced injury. *Kidney Int* 2012; 82(7): 771-89.
- 12 Funk JA, Odejinmi S, Schnellmann RG. SRT1720 induces mitochondrial biogenesis and rescues mitochondrial function after oxidant injury in renal proximal tubule cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 333(2): 593-601.