

# 山柰酚通过下调 PARP-1 抑制炎症反应和心肌细胞凋亡改善心肌梗死大鼠心功能障碍的研究<sup>△</sup>

鄞晓斌\*, 邱名耀, 吴海琴, 林明霞 (海南医学院第一附属医院急诊科, 海口 570102)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2023)03-0295-05

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2023.03.009



**摘要** 目的:观察山柰酚(KMP)对心肌梗死(MI)大鼠炎症反应和心肌细胞凋亡的影响,并探讨其作用机制。方法:将50只大鼠随机分为假手术组(Sham组)、模型组(MI组)、KMP组(给予KMP)、DPQ组[给予聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶1(PARP-1)抑制剂]和KMP+DPQ组(给予KMP联合PARP-1抑制剂),每组10只。除Sham组外,其余各组大鼠以冠状动脉左前降支结扎法建立MI模型。各组进行对应药物处理后,采用超声心动图检查大鼠心功能指标,酶联免疫吸附试验检测大鼠血清肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)活性以及肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)和白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )含量,苏木精-伊红染色观察大鼠心肌组织病理形态学,原位末端转移酶标记染色检测大鼠心肌细胞凋亡,蛋白质印迹法检测大鼠心肌组织中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 蛋白以及PARP-1蛋白表达。结果:与MI组相比,KMP组、DPQ组大鼠左心室收缩末期内径、左心室舒张末期内径显著降低,左心室短轴缩短率、左心室射血分数以及血清CK-MB、cTnI水平显著升高,心肌组织病理损伤显著减轻,细胞凋亡率、炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ )水平显著降低,心肌组织炎症因子相关蛋白、PARP-1蛋白表达显著下调,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。KMP+DPQ组对MI大鼠心功能的改善作用显著优于KMP组、DPQ组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:KMP可能通过下调PARP-1表达抑制心肌炎症反应和心肌细胞凋亡,进而改善MI大鼠心功能障碍。

**关键词** 山柰酚; 心肌梗死; PARP-1; 炎症; 细胞凋亡; 心功能

## Kaempferol in Improving Cardiac Dysfunction in Rats with Myocardial Infarction by Down-Regulating Parp-1 to Inhibit Inflammatory Response and Cardiomyocyte Apoptosis<sup>△</sup>

YIN Xiaobin, QIU Mingyao, WU Haiqin, LIN Mingxia (Dept. of Emergency, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To observe the effects of kaempferol (KMP) on inflammatory response and cardiomyocyte apoptosis in rats with myocardial infarction (MI), and to explore its mechanism. **METHODS:** Fifty rats were randomly divided into the Sham operation group (Sham), model group (MI), KMP group (received KMP), DPQ group [received poly ADP-ribose polymerase-1 (PARP-1) inhibitor] and KMP + DPQ group [received KMP combined with PARP-1 inhibitor], with 10 rats in each group. Except for the Sham group, MI models were established by ligation of left anterior descending coronary artery in other groups. After the corresponding drug treatment, the cardiac function indexes of rats were examined by echocardiography, and the activities of serum creatine kinase isoenzyme (CK-MB), cardiac troponin I (cTnI) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, the pathological morphology of rat myocardium was observed by hemotoxylin and eosin staining, the apoptosis of rat cardiomyocytes was detected by TUNEL staining, and the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$  protein and PARP-1 protein expression in myocardium was detected by Western blotting. **RESULTS:** Compared with MI group, left ventricular end-systolic diameter and left ventricular end-diastolic diameter in the KMP group and DPQ group decreased significantly, left ventricular fractional shortening, left ventricular ejection fraction and serum CK-MB and cTnI levels increased significantly, and the pathological damage of myocardial tissue was significantly alleviated, the apoptosis rate, the levels of inflammatory factors (TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$ ) decreased significantly, and the expression of inflammatory factor-related proteins and PARP-1 protein in myocardial tissue were significantly down-regulated, with statistically significant differences ( $P<0.05$ ). The improvement of cardiac function in the KMP+DPQ group was significantly better than that in the KMP group and DPQ group ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS:** KMP may inhibit MI and cardiomyocyte apoptosis by down-regulating PARP-1 expression, thereby improving cardiac dysfunction in rats with MI.

**KEYWORDS** Kaempferol; Myocardial infarction; PARP-1; Inflammation; Apoptosis; Cardiac function

<sup>△</sup> 基金项目:海南省卫生健康行业科研项目(No. 21A200214)

\* 主治医师。研究方向:急诊内科学。E-mail:sai158991@163.com

心肌梗死(miocardial infarction, MI)是由于心肌氧需求和冠状动脉供血之间的不平衡而引发的,MI发作后,机体交感神

经系统长时间持续激活,常导致患者心功能障碍,威胁患者生命安全<sup>[1-2]</sup>。多项研究结果证实,炎症和细胞凋亡是导致 MI 后心功能障碍的主要病理途径,而改善心功能障碍是改善 MI 患者预后的主要措施<sup>[3-4]</sup>。聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶 1 (PARP-1)是一种存在于大多数真核生物中重要的 DNA 修饰酶,PARP-1 的激活与脑缺血、动脉粥样硬化内皮功能障碍、心肌梗死后心力衰竭等各种心脑血管疾病的发生、发展密切相关,抑制 PARP-1 表达可减少 MI 后心肌细胞及组织的损伤<sup>[5-6]</sup>。山柰酚(KMP)是天然黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗凋亡和抗动脉粥样硬化等多种生物活性,被称为有效的天然抗氧化剂。AI 等<sup>[7]</sup>的研究结果发现,KMP 可通过激活 SIRT1 和抑制 PARP-1,抑制过氧化氢诱导的视网膜色素上皮细胞炎症和凋亡。Vishwakarma 等<sup>[8]</sup>的研究结果表明,KMP 对异丙肾上腺素所致大鼠心肌损伤具有保护作用。鉴于 KMP 具有保护心肌损伤的药理学特性,本研究探究了 KMP 对 MI 大鼠心功能障碍的影响,并分析其发挥作用是否与调控 PARP-1 活性具有相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物:8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(200±20)g。饲养于温度为 18~24 ℃,相对湿度 50%~70%和光照 12 h 明暗交替的环境中,标准饲料喂养,自由饮水、进食。实验动物购自海南药物研究所有限责任公司,生产许可证为 SCXK(琼)2020-0007。

1.1.2 仪器:TKR-200C 型小动物呼吸机(江西省特力麻醉呼吸设备公司);DC-N3S 型彩色多普勒超声系统(南京贝登医疗股份有限公司);PowerPacUniversal 型电泳仪、全能型蛋白快速转膜仪(美国 Bio-rad 公司);Libra S50 PC 型紫外可见分光光度计(英国 Biochrom 公司);iBright CL750 成像系统(美国 Thermo Fisher 公司)。

1.1.3 药品与试剂:KMP(纯度≥98%,上海皓鸿生物医药科技有限公司);PARP-1 抑制剂 DPQ(美国 APEX BIO 公司);心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、白细胞介素(IL)6、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)和白细胞介素 1β(IL-1β)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(北京奥维亚生物技术有限公司);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝生物科技有限公司);原位末端转移酶标记(TUNEL)凋亡检测试剂盒(上海齐一生物科技有限公司);兔抗 TNF-α、IL-6、IL-1β 和 PARP-1 单克隆抗体,辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔 IgG 二抗(英国 Abcam 公司);增强化学发光(ECL)试剂(北京伊诺凯科技有限公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 建模与分组:参考文献<sup>[9]</sup>建立 MI 模型:腹腔注射 1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉大鼠,仰卧位固定于实验台,将动物呼吸机连接至大鼠颈部气管后,于左侧第三肋间开胸暴露大鼠心脏,在左心耳与肺动脉圆锥交界处下约 2 mm 用 6-0 号(请核实丝线型号表述是否规范)丝线穿线,行冠状动脉左前降支结扎,结扎后左心室心肌组织变为灰白色,结扎远端心肌收缩力减弱,阻断前降支血液,心电图可见 ST 段抬高,即为成功建立 MI 模型。术后大鼠腹腔注射青霉素预防感染。将造

模成功的 40 只大鼠随机分为模型组(MI 组)、KMP 组、DPQ 组和 KMP+DPQ 组,每组 10 只。以正常饲养的 10 只大鼠作为假手术组(Sham 组),Sham 组大鼠重复上述手术过程,但仅穿线不结扎。

1.2.2 给药干预:KMP 组大鼠腹腔注射 KMP 20 mg/(kg·d);DPQ 组大鼠腹腔注射 DPQ 10 mg/(kg·d);KMP+DPQ 组大鼠腹腔注射 KMP 20 mg/(kg·d)+DPQ 10 mg/(kg·d);Sham 组和 MI 组大鼠均腹腔注射等量 0.9%氯化钠溶液。持续给药 4 周。

1.2.3 超声心动图检查:给药结束后,对实验大鼠进行心脏超声心动图检查,记录大鼠左心室收缩末期内径(LVESD)、左心室舒张末期内径(LVEDD)、左心室短轴缩短率(LVFS)和左心室射血分数(LVEF)。各指标均检测 3 次,取平均值。

1.2.4 样本收集:大鼠心功能超声检测结束后,经腹主动脉取血,3 000 r/min 离心(离心半径 10 cm)10 min,收集上清液,分装保存于-80 ℃冰箱。随后脱颈处死大鼠,迅速分离心脏,剪取心肌梗死边缘区组织,用预冷的 0.9%氯化钠溶液冲洗,一部分心肌组织保存于-80 ℃冰箱备用,另一部分心肌组织置于 4%多聚甲醛固定。

1.2.5 ELISA:严格按照 ELISA 试剂盒说明书检测大鼠血清中心肌损伤标志物(CK-MB、cTnI)活性和炎症因子(TNF-α、IL-6 和 IL-1β)水平。

1.2.6 HE 染色:将固定于 4%多聚甲醛的大鼠心肌组织制成厚度为 5 μm 的石蜡切片。取石蜡切片进行 HE 染色,在光学显微镜下观察。

1.2.7 TUNEL 染色:大鼠心肌组织石蜡切片脱蜡水化,加入蛋白酶 K 溶液室温(25 ℃)孵育 20 min,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温孵育 10 min,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗,滴加 TUNEL 反应液 50 μL,37 ℃孵育 60 min,孵育结束后,用 PBS 漂洗后,滴加抗荧光素抗体,0.05% 二氨基联苯胺显色 4 min,蒸馏水洗后,苏木精复染 10 min,脱水,透明,封片。每张切片随机选择 5 个视野在光学显微镜下观察,褐黄色或棕褐色颗粒即为凋亡细胞。

1.2.8 蛋白质印迹法:使用放射免疫沉淀法提取心肌组织中总蛋白,二喹啉甲酸蛋白分析试剂盒进行定量。取定量蛋白进行电泳分离并电转至 PVDF 膜上,室温下以 5%脱脂奶粉封闭膜 2 h,洗膜,4 ℃下将膜分别与 TNF-α(1:800)、IL-6(1:800)、IL-1β(1:800)、PARP-1(1:1 000)和 β-actin(1:1 000)一抗孵育过夜,洗膜,室温下将膜与对应二抗(1:2 000)孵育 1 h,洗膜,滴加 ECL 试剂显影,通过 Image J 软件对蛋白灰度值进行分析。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行数据分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 KMP 改善 MI 大鼠心功能指标水平

与 Sham 组比较,MI 组大鼠 LVESD、LVEDD 均显著升高,LVFS 和 LVEF 均显著降低( $P < 0.05$ );与 MI 组比较,DPQ 组、KMP 组和 KMP+DPQ 组大鼠 LVESD、LVEDD 均显著降低,LVFS 和 LVEF 均显著升高( $P < 0.05$ ),且 KMP+DPQ 组大鼠 LVESD、LVEDD 均显著低于 KMP 组和 DPQ 组,LVFS 和 LVEF 均显著

高于 KMP 组和 DPQ 组 ( $P < 0.05$ ), 上述差异均有统计学意义, 见表 1。

表 1 KMP 对 MI 大鼠心功能指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Effects of KMP on cardiac function indexes of rats with MI ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	LVEDD/mm	LVEDD/mm	LVFS/%	LVEF/%
Sham 组 ( $n=10$ )	3.39±0.40	5.47±0.55	36.57±3.69	86.41±1.39
MI 组 ( $n=10$ )	6.35±0.62 <sup>a</sup>	10.13±0.95 <sup>a</sup>	14.38±1.52 <sup>a</sup>	29.30±2.35 <sup>a</sup>
DPQ 组 ( $n=10$ )	5.74±0.60 <sup>b</sup>	8.62±0.91 <sup>b</sup>	19.53±1.67 <sup>b</sup>	43.08±2.68 <sup>b</sup>
KMP 组 ( $n=10$ )	5.32±0.50 <sup>b</sup>	7.11±0.73 <sup>b</sup>	27.36±2.55 <sup>b</sup>	58.42±3.81 <sup>b</sup>
KMP+DPQ 组 ( $n=10$ )	4.15±0.43 <sup>bcd</sup>	6.12±0.71 <sup>bcd</sup>	33.60±3.25 <sup>bcd</sup>	63.72±3.94 <sup>bcd</sup>

注: 与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 MI 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DPQ 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 KMP 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the Sham group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the MI group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the DPQ group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the KMP group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

## 2.2 KMP 改善 MI 大鼠血清 CK-MB 和 cTnI 水平

与 Sham 组比较, MI 组大鼠血清 CK-MB、cTnI 水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与 MI 组比较, DPQ 组、KMP 组和 KMP+DPQ 组大鼠血清 CK-MB、cTnI 水平均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且 KMP+DPQ 组大鼠血清 CK-MB、cTnI 水平均显著低于 KMP 组和 DPQ 组 ( $P < 0.05$ ), 上述差异均有统计学意义, 见表 2。

## 2.3 KMP 改善 MI 大鼠心肌组织病理形态学变化

Sham 组大鼠心肌细胞排列整齐, 细胞结构清晰, 无明显细胞坏死和炎症细胞浸润现象; MI 组大鼠心肌细胞排列紊乱, 细胞核溶解、消失, 可见大量炎症细胞浸润; DPQ 组、KMP 组和

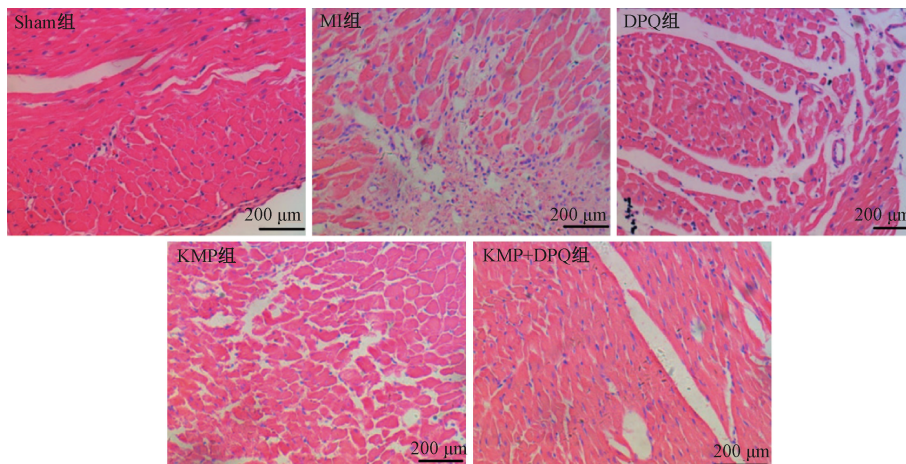


图 1 KMP 对 MI 大鼠心肌组织病理形态学变化的影响 (HE, ×400)

Fig 1 Effects of KMP on pathomorphological changes of myocardial tissue in rats with MI (HE, × 400)

## 2.5 KMP 改善 MI 大鼠炎症因子水平

与 Sham 组比较, MI 组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  水平, 心肌组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  蛋白表达水平均显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与 MI 组比较, DPQ 组、KMP 组和 KMP+DPQ 组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  水平, 心肌组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  蛋白表达水平均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且 KMP+DPQ 组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  水平, 心肌组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  蛋白表达水平均显著低于 KMP 组和 DPQ 组 ( $P < 0.05$ ), 上述差异均有统计学意义, 见表 3、图 3。

## 2.6 KMP 下调 MI 大鼠心肌组织中 PARP-1 蛋白表达

与 Sham 组比较, MI 组大鼠心肌组织 PARP-1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与 MI 组比较, KMP 组、DPQ 组和 KMP+DPQ 组大鼠心肌组织 PARP-1 蛋白表达水平均显著降低 ( $P <$

表 2 KMP 对 MI 大鼠血清 CK-MB 和 cTnI 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

Tab 2 Effects of KMP on serum CK-MB and cTnI levels in rats with MI ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

组别	CK-MB	cTnI
Sham 组 ( $n=10$ )	36.21±3.70	8.39±0.85
MI 组 ( $n=10$ )	98.73±4.58 <sup>a</sup>	34.52±2.41 <sup>a</sup>
DPQ 组 ( $n=10$ )	71.85±4.31 <sup>b</sup>	28.11±2.23 <sup>b</sup>
KMP 组 ( $n=10$ )	57.15±3.16 <sup>b</sup>	21.53±1.49 <sup>b</sup>
KMP+DPQ 组 ( $n=10$ )	43.55±2.86 <sup>bcd</sup>	16.31±1.64 <sup>bcd</sup>

注: 与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 MI 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DPQ 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 KMP 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the Sham group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the MI group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the DPQ group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the KMP group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

KMP+DPQ 组大鼠心肌细胞排列较为整齐, 细胞核结构较为清晰, 心肌细胞变性、坏死和炎症细胞浸润等病理特征均有不同程度的改善, 其中 KMP+DPQ 组改善效果较 KMP 组和 DPQ 组更为显著, 见图 1。

## 2.4 KMP 抑制 MI 大鼠心肌组织细胞凋亡

与 Sham 组比较, MI 组大鼠心肌组织细胞凋亡率显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与 MI 组比较, DPQ 组、KMP 组和 KMP+DPQ 组大鼠心肌组织细胞凋亡率均显著降低 ( $P < 0.05$ ), 且 KMP+DPQ 组大鼠心肌组织细胞凋亡率显著低于 KMP 组和 DPQ 组 ( $P < 0.05$ ), 上述差异均有统计学意义, 见图 2。

表 3 KMP 对 MI 大鼠血清炎症因子水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

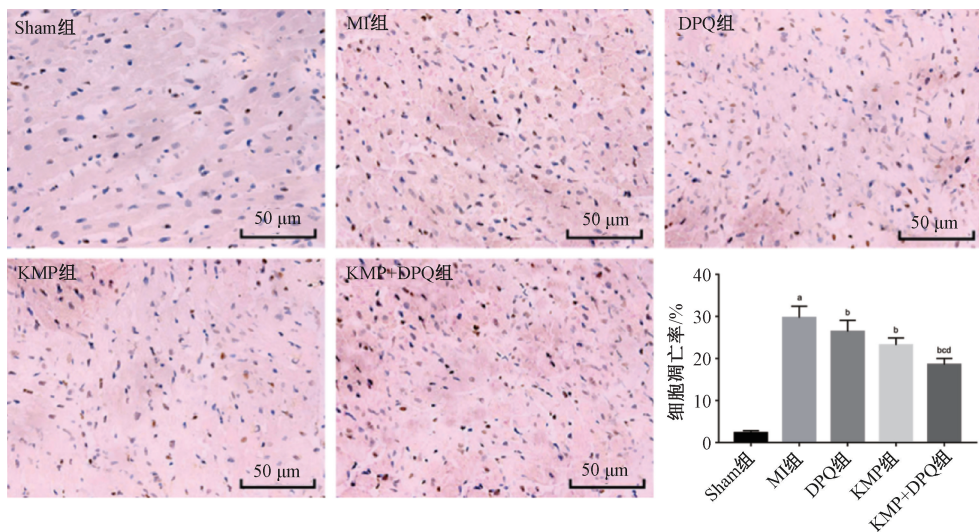
Tab 3 Effects of KMP on levels of serum inflammatory factors in rats with MI ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

组别	TNF- $\alpha$	IL-6	IL-1 $\beta$
Sham 组 ( $n=10$ )	31.57±2.61	14.29±1.50	19.58±2.11
MI 组 ( $n=10$ )	84.31±5.26 <sup>a</sup>	43.72±2.86 <sup>a</sup>	51.62±4.33 <sup>a</sup>
DPQ 组 ( $n=10$ )	75.39±4.15 <sup>b</sup>	37.25±2.42 <sup>b</sup>	43.50±3.67 <sup>b</sup>
KMP 组 ( $n=10$ )	59.40±3.86 <sup>b</sup>	30.58±2.17 <sup>b</sup>	35.21±2.65 <sup>b</sup>
KMP+DPQ 组 ( $n=10$ )	44.36±3.25 <sup>bcd</sup>	24.09±1.76 <sup>bcd</sup>	27.36±2.52 <sup>bcd</sup>

注: 与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 MI 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DPQ 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 KMP 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the Sham group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the MI group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the DPQ group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the KMP group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

0.05), 且 KMP+DPQ 组大鼠心肌组织 PARP-1 蛋白表达水平显著低于 KMP 组和 DPQ 组 ( $P < 0.05$ ), 上述差异均有统计学

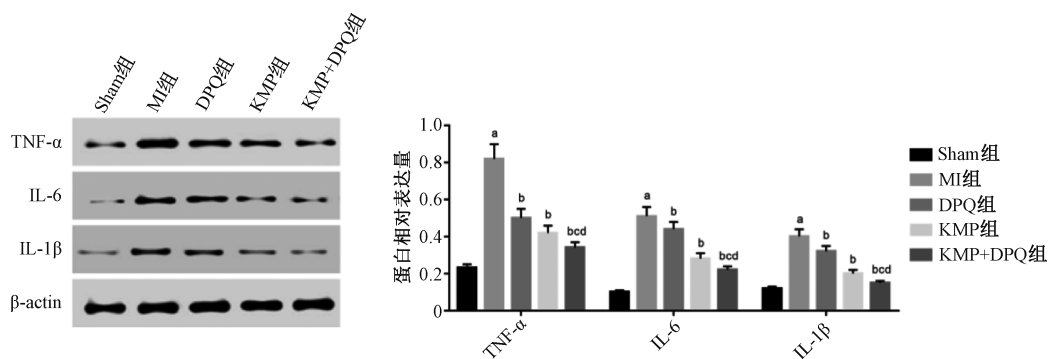


与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 MI 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DPQ 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 KMP 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

Note: vs. the Sham group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the MI group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the DPQ group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the KMP group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

图 2 KMP 对 MI 大鼠心肌组织细胞凋亡的影响 (TUNEL,  $\times 200$ )

Fig 2 Effects of KMP on myocardial apoptosis in rats with MI (TUNEL,  $\times 200$ )

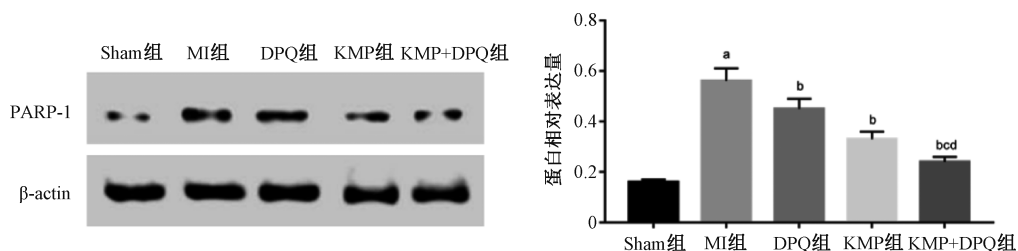


与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 MI 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DPQ 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 KMP 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

vs. the Sham group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the MI group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the DPQ group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the KMP group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

图 3 KMP 对 MI 大鼠心肌组织中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 蛋白表达的影响

Fig 3 Effects of KMP on protein expression of TNF-α, IL-6, IL-1β in myocardial tissue of rats with MI



与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 MI 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与 DPQ 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与 KMP 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$

vs. the Sham group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the MI group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the DPQ group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; vs. the KMP group, <sup>d</sup> $P < 0.05$

图 4 KMP 对 MI 大鼠心肌组织中 PARP-1 蛋白表达的影响

Fig 4 Effects of KMP on protein expression of PARP-1 in myocardial tissue of rats with MI

意义, 见图 4。

### 3 讨论

KMP 是一种重要的类黄酮化合物, 存在于多种食用植物和传统医药植物中, 可降低多种疾病的风险<sup>[10]</sup>。Wang 等<sup>[11]</sup>的研究结果表明, KMP 通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)/糖原合成酶激酶 3β (GSK-3β) 通路对心肌缺

血/再灌注损伤发挥保护作用。Zhang 等<sup>[12]</sup>报道, KMP 通过调节核因子 E2 相关因子 2、核因子 κ 和 PI3K/Akt/GSK-3β 信号通路改善糖尿病大鼠心力衰竭。Suchal 等<sup>[13]</sup>报道, KMP 通过抗炎、抗氧化和抗凋亡作用缓解异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌损伤。上述研究结果表明, KMP 具有心肌保护作用。本研究成功构建 MI 大鼠模型, 检测 KMP 对 MI 大鼠的影响, 结果显

示,KMP降低了MI大鼠LVESD、LVEDD、CK-MB和cTnI水平,升高了LVFS、LVEF水平,显著改善了大鼠心肌组织病理损伤,表明KMP可减轻MI后心肌损伤,保护心功能。

MI后会触发中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞浸润,促进TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 等炎症因子分泌,而炎症因子水平增加促进炎症细胞浸润心肌组织梗死区,导致心肌坏死和心肌细胞凋亡的范围逐渐扩大,最终引起大面积心肌梗死。MI后的炎症反应加重心肌细胞凋亡,是导致心功能进一步受损的主要原因<sup>[14-16]</sup>。本研究结果显示,MI大鼠心肌组织细胞凋亡率显著升高,血清炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 水平及心肌组织中TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 蛋白表达水平均显著升高;KMP干预后,MI大鼠心肌组织细胞凋亡和炎症因子水平均明显降低,提示KMP可以改善MI后炎症反应,减少MI后心肌细胞的凋亡。

PARP-1作为催化聚ADP核糖化的细胞核酶,可识别受损的DNA并与之结合,参与DNA损伤修复;可被凋亡核心成员Caspase切割后失去酶活性,从而影响细胞稳定性,促进凋亡的发生。此外,PARP-1还可以调节多种炎症因子的表达,参与机体炎症反应<sup>[17-19]</sup>。本研究中,MI大鼠心肌组织PARP-1蛋白表达水平显著升高。多项研究结果证实,PARP-1过度激活对缺血心肌细胞有不良影响。Xu等<sup>[20]</sup>的研究结果发现,心肌缺血再灌注损伤可激活PARP-1酶,抑制PARP-1活性可显著减轻心肌损伤,敲除PARP-1基因可显著减轻大鼠心脏损伤。Zhao等<sup>[21]</sup>报道,抑制PARP-1活性可以改善MI后的心肌重塑,从而改善心功能。Wang等<sup>[22]</sup>的研究结果发现,应用PARP-1抑制剂可降低自噬,减轻MI后心肌纤维化。本研究中,应用KMP和PARP-1抑制剂DPQ后,MI大鼠心肌组织PARP-1的表达水平均显著降低,且KMP和DPQ联合干预MI大鼠时,大鼠心功能障碍改善程度显著优于单独应用KMP和DPQ。该结果提示KMP可能通过抑制PARP-1表达减轻MI后的炎症反应,减少MI后心肌细胞凋亡,进而改善MI后心功能障碍。

综上所述,KMP可通过下调PARP-1表达,抑制MI后炎症因子活性,减轻炎症反应,减少心肌细胞凋亡,改善心功能障碍,进而改善MI疾病预后。

## 参考文献

- [1] TIBAUT M, MEKIS D, PETROVIC D. Pathophysiology of myocardial infarction and acute management strategies [J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2017, 14(3): 150-159.
- [2] SMIT M, COETZEE A R, LOCHNER A. The pathophysiology of myocardial ischemia and perioperative myocardial infarction [J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2020, 34(9): 2501-2512.
- [3] HUANG S B, FRANGOGIANNIS N G. Anti-inflammatory therapies in myocardial infarction: failures, hopes and challenges [J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(9): 1377-1400.
- [4] WANG X W, GUO Z K, DING Z F, et al. Inflammation, autophagy, and apoptosis after myocardial infarction [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(9): e008024.
- [5] WANG Y J, LUO W B, WANG Y F. PARP-1 and its associated nucleases in DNA damage response [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2019, 81: 102651.
- [6] GENG H H, SU Y M, HUANG R, et al. Specific protein 1 inhibitor mithramycin A protects cardiomyocytes from myocardial infarction via interacting with PARP [J]. *In Vitro Cell Dev Biol*

- Anim, 2021, 57(3): 315-323.
- [7] AL SABAANI N. Kaempferol protects against hydrogen peroxide-induced retinal pigment epithelium cell inflammation and apoptosis by activation of SIRT1 and inhibition of PARP1 [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2020, 36(7): 563-577.
- [8] VISHWAKARMA A, SINGH T U, RUNGSUNG S, et al. Effect of kaempferol pretreatment on myocardial injury in rats [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2018, 18(4): 312-328.
- [9] 刘帆, 邸亚丽, 马威, 等. 参芍口服液对急性心肌梗死大鼠的心肌保护作用分析 [J]. *解放军医药杂志*, 2022, 34(6): 1-6.
- [10] ALAM W, KHAN H, SHAH M A, et al. Kaempferol as a dietary anti-inflammatory agent: current therapeutic standing [J]. *Molecules*, 2020, 25(18): 4073.
- [11] WANG D, ZHANG X J, LI D F, et al. Kaempferide protects against myocardial ischemia/reperfusion injury through activation of the PI3K/Akt/GSK-3  $\beta$  pathway [J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 5278218.
- [12] ZHANG L, GUO Z X, WANG Y, et al. The protective effect of kaempferol on heart via the regulation of Nrf2, NF- $\kappa$ B, and PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  signaling pathways in isoproterenol-induced heart failure in diabetic rats [J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(3): 294-309.
- [13] SUCHAL K, MALIK S, GAMAD N, et al. Kampeferol protects against oxidative stress and apoptotic damage in experimental model of isoproterenol-induced cardiac toxicity in rats [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(12): 1401-1408.
- [14] KOLOGRIVOVA I, SHTATOLKINA M, SUSLOVA T, et al. Cells of the immune system in cardiac remodeling: main players in resolution of inflammation and repair after myocardial infarction [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 664457.
- [15] HARTMAN M H T, GROOT H E, LEACH I M, et al. Translational overview of cytokine inhibition in acute myocardial infarction and chronic heart failure [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2018, 28(6): 369-379.
- [16] MORIYA J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis [J]. *J Cardiol*, 2019, 73(1): 22-27.
- [17] NI S Y, ZHONG X L, LI Z H, et al. Puerarin alleviates lipopolysaccharide-induced myocardial fibrosis by inhibiting PARP-1 to prevent HMGB1-mediated TLR4-NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2020, 20(5): 482-491.
- [18] MENG Y Y, WU C W, YU B, et al. PARP-1 involvement in autophagy and their roles in apoptosis of vascular smooth muscle cells under oxidative stress [J]. *Folia Biol (Praha)*, 2018, 64(3): 103-111.
- [19] 罗超, 喻鹏久. PARP-1在肺部炎症性疾病中的作用研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2018, 32(2): 141-149.
- [20] XU Y F, WANG B Q, LIU X X, et al. Sp1 targeted PARP1 inhibition protects cardiomyocytes from myocardial ischemia-reperfusion injury via downregulation of autophagy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 621906.
- [21] ZHAO H, ZHANG J J, HONG G. Minocycline improves cardiac function after myocardial infarction in rats by inhibiting activation of PARP-1 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 1119-1124.
- [22] WANG H B, YANG X, YANG Q Q, et al. PARP-1 inhibition attenuates cardiac fibrosis induced by myocardial infarction through regulating autophagy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(3): 1625-1632.

(收稿日期:2022-07-28 修回日期:2022-10-08)