

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.04.008

PARP-1 对高糖诱导的心肌细胞增殖的影响及机制研究 *

李 青 刘 昕 范博渊 倪雅娟 刘 平

(西安交通大学第二附属医院 心内科 陕西 西安 710004)

摘要 目的:研究 PARP-1 对高糖诱导的心肌细胞增殖的影响及可能机制。**方法:**用高糖处理 H9C2 细胞,qRT-PCR 和 Western blot 检测细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平。H9C2 细胞转染 PARP-1 siRNA 和 siRNA control,qRT-PCR 和 Western blot 检测细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平。用高糖处理转染 PARP-1 siRNA 后的 H9C2 细胞,CCK-8 检测细胞增殖情况,硫代巴比妥酸法检测丙二醛(MDA)水平,黄嘌呤氧化酶法检测超氧化物歧化酶(SOD)水平,Western blot 检测增殖细胞核抗原(PCNA)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)、磷酸化的 p38MAPK(p-p38MAPK)蛋白的表达。**结果:**高糖诱导的 H9C2 细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平明显高于正常培养的 H9C2 细胞 ($P<0.05$)。PARP-1 siRNA 能够明显下调 H9C2 细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平。高糖处理后 H9C2 细胞存活率明显降低,细胞中 MDA 水平升高,细胞中 SOD 水平降低,细胞内的 PCNA 水平降低,p38MAPK 磷酸化水平升高,与正常培养的 H9C2 细胞相比,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。用高糖培养下调 PARP-1 的 H9C2 细胞,细胞存活率有所升高,细胞中 MDA 水平降低,细胞中 SOD 水平也升高,细胞中 PCNA 水平升高,细胞中 p38MAPK 磷酸化水平降低,与单纯高糖培养的细胞相比,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**PARP-1 在高糖诱导的心肌细胞中表达上调,可能通过激活 p38MAPK 信号途径,增加细胞脂质氧化应激抑制心肌细胞增殖。

关键词:心肌细胞;高糖;PARP-1;增殖

中图分类号:R-33;R587.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)04-642-05

Effect and Mechanism of PARP-1 on the Proliferation of High Glucose-induced Myocardial Cells*

LI Qing, LIU Xin, FAN Bo-yuan, NI Ya-juan, LIU Ping

(Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China)

ABSTRACT Objective: The study the effect and mechanism of PARP-1 on the proliferation of H9C2 cells induced by high glucose. **Methods:** H9C2 cells were treated with high glucose, and the levels of PARP-1 mRNA and protein in the cells were detected by qRT-PCR and Western blot. H9C2 cells were transfected PARP-1 siRNA and siRNA control, qRT-PCR and Western blot were used to detect PARP-1 mRNA and protein levels in the cells. H9C2 cells were transfected with PARP-1 siRNA and high glucose. CCK-8 was used to detect the cell proliferation, thiobarbituric acid method was used to detect the level of malondialdehyde. The level of SOD was detected by xanthine oxidase method. The levels of PCNA, p38MAPK and p-p38MAPK protein were detected by Western blot. **Results:** The level of PARP-1 mRNA and protein in H9C2 cells after high glucose was significantly higher than that of normal cultured H9C2 cells ($P<0.05$). PARP-1 siRNA can obviously reduce the level of PARP-1 mRNA and protein in H9C2 cells. The survival rate of H9C2 cells decreased significantly after high glucose treatment. The level of MDA in the cells was elevated, the level of SOD in the cells was reduced, the level of PCNA in the cells decreased and the level of p38MAPK phosphorylation increased, compared with the normal H9C2 cells, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Down-regulation of PARP-1 H9C2 cells with high glucose, the survival rate of cells increased, the level of MDA in the cells was reduced, the level of SOD also increased in the cells, the level of PCNA in the cells was elevated, the level of p38MAPK phosphorylation in the cells was reduced, compared with pure high sugar cells, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** The expression of PARP-1 was up-regulated in cardiomyocytes induced by high glucose, which increase the cell lipid oxidation stress to inhibit the proliferation of cardiomyocytes by activating p38MAPK signal pathway.

Key words: Cardiac myocytes; High glucose; PARP-1; Proliferation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)04-642-05

前言

糖尿病心肌病是由糖尿病引起的并发症,主要表现为心肌功能和结构异常。糖尿病心肌病的发病机制较为复杂,高血糖、

* 基金项目:陕西省自然科学基金面上项目(2016JM-8038)

作者简介:李青(1986-),女,硕士,住院医师,研究方向:冠心病、高血压、电生理等,电话:18710600355,E-mail: Liq_ing85@163.com

(收稿日期:2018-04-23 接受日期:2018-05-18)

脂质代谢障碍、氧化损伤、心肌细胞活性下降等都可能参与其发病过程^[1,2]。聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 [poly(ADP-ribose) polymerase 1, PARP-1] 与细胞生物学功能有关,其可以调控细胞内 DNA 的转录和表达,维持基因组的稳定,在心脑血管疾病、癌症、中枢神经系统疾病等的发生中具有重要作用^[3,4]。近年来的研究显示糖尿病心肌病心肌组织中 PARP-1 mRNA 表达升高^[5]。抑制心肌细胞中 PARP-1 的表达可以提高肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 作用后的心肌细胞增殖活性^[6]。

本研究以高糖培养的心肌细胞为体外模型,通过小干扰 RNA 下调细胞中的 PARP-1 表达,通过 CCK-8、Western blot 等方法探讨下调 PARP-1 对高糖诱导的心肌细胞增殖及细胞中丙二醛(malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(Superoxide Orogotein Dismutase, SOD)水平的影响,以期对糖尿病心肌病的临床防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

H9C2 细胞购自于中科院细胞库;PARP-1 多克隆抗体为美国 Santa Cruz 产品;DMEM 培养基、葡萄糖为美国 Sigma 产品;p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 Mitogen-activated protein kinases, p38MAPK)多克隆抗体、磷酸化的 p38MAPK (p-p38MAPK)多克隆抗体、 β 肌动蛋白(β -actin)多克隆抗体为美国 CTS 产品;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量检测试剂盒为碧云天研究所产品;硫代巴比妥酸法检测 MDA 水平为北京索莱宝产品;RNA 提取试剂盒购自于北京天根;cDNA 合成试剂盒购自于宝生物(大连)生物;SOD 水平检测试剂盒为南京森贝伽生物产品;PARP-1、 β -actin 引物由上海生工合成;Lipofectamine 2000 为美国 Thermo 产品;PARP-1 siRNA 和 siRNA control 为上海 Seebio 产品。

1.2 细胞分组

H9C2 细胞分为:对照组、高糖组、si-NC 组、PARP-1 si 组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高糖组;(1)对照组:H9C2 细胞用含有 5.5 mmol/L 的葡萄糖细胞培养液培养;(2)高糖组:H9C2 细胞用含有 25 mmol/L 的葡萄糖细胞培养液培养;(3)si-NC 组:H9C2 细胞中转染 siRNA control 后,用含有 5.5 mmol/L 的葡萄糖细胞培养液培养;(4)PARP-1 si 组:H9C2 细胞中转染 PARP-1 siRNA 后,用含有 5.5 mmol/L 的葡萄糖细胞培养液培养;(5)si-NC+ 高糖组:H9C2 细胞中转染 siRNA control 后,用含有 25 mmol/L 的葡萄糖细胞培养液培养;(6)PARP-1 si+ 高糖组:H9C2 细胞中转染 PARP-1 siRNA 后,用含有 25 mmol/L 的葡萄糖细胞培养液培养;转染步骤如 1.5。H9C2 细胞用含有 10%胎牛血清的 DMEM 培养液培养。

1.3 qRT-PCR 测定心肌细胞中 PARP-1 mRNA 的表达

对照组、高糖组细胞培养 48 h 以后,用 qRT-PCR 检测细胞中 PARP-1 水平。Trizol 法提取细胞中的总 RNA,步骤参照试剂盒说明书。用紫外分光光度计检测 RNA 的浓度及纯度,反转录合成 cDNA,步骤参照 cDNA 合成试剂盒,根据 qRT-PCR 试剂盒检测 PARP-1 mRNA 水平,程序为:94℃,15s (变性),58℃,15s(退火),72℃,15s(延伸),40 个循环。PARP-1 上游引物为 5'-AGCCTTCAGGAGTTGTTCTTAG-3',下游引物

5'-GAGYGYGGAGYCCAGAATCA-3'。 β -actin 上游引物为 5'-AGGTCTTTGCGCATGTCCA-3',下游引物 5'-GCACTCTTCCAGCCTTCCTT-3'。2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算 PARP-1 mRNA 水平,内参基因为 β -actin,实验重复 3 次。

1.4 Western blot 测定高糖作用后心肌细胞中 PARP-1 水平

对照组、高糖组细胞培养 48 h 以后,将培养倒掉,用 4℃ 预冷的 PBS 洗涤细胞,在细胞中添加细胞裂解液,放在冰上孵育 30 min,在 4℃,14000 rpm 离心 30 min,吸取上清(蛋白存在于上清中),用 BCA 法定量检测蛋白浓度,步骤参照试剂盒说明书。蛋白电泳:使用 12%分离胶,5%浓缩胶,100 V 电泳。转膜:90 V,转膜 80 min。封闭:5%牛血清白蛋白,37℃ 孵育 1.5 h。抗体结合:把膜放在 1:1000 稀释的 PARP-1 一抗,在 4℃ 过夜, TBST 洗涤,把膜在放置于 1:2000 稀释辣根过氧化物酶标记的二抗中,37℃ 结合 90 min, TBST 洗涤。ECL 发光, Bio-Rad 成像系统采集图片,分析蛋白相对定量水平。蛋白水平 = 检测蛋白灰度值 $\div$ β -actin 灰度值。实验重复 3 次,取均值。

1.5 细胞转染及转染后细胞中 PARP-1 水平检测

H9C2 细胞转染参照 Lipofectamine 2000 转染说明书,简述步骤如下:H9C2 细胞浓度调整为每毫升含有 4 $\times$ 10⁵ 个细胞,接种到 6 孔板中,每孔中添加 2 mL,孵育过夜后,更换成不含血清的培养液继续孵育 1 h。用 DMEM 将 PARP-1 siRNA、siRNA control 分别稀释后,于室温环境结合 5 min,记为 A 液。同时用 DMEM 将 Lipofectamine 2000 稀释记为 B 液。把 A 液和 B 液混匀后,于室温静置 20 min,加入上述 6 孔板中,孵育 6 h,将上清吸除,用新鲜的培养液继续培养。在培养 48 h 以后,用 qRT-PCR 和 Western blot 检测细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平,步骤同 1.3 和 1.4。实验重复 3 次,取均值。

1.6 CCK-8 测定细胞增殖

对照组、高糖组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高糖组细胞增殖活性用 CCK-8 检测。将心肌细胞种植到 96 孔板中,按照对照组、高糖组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高糖组分组处理,放在 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养,48 h 以后,在每孔中添加 10 μ L 的 CCK-8 溶液,放在 37℃ 孵育 4 h。紫外分光光度计检测 450 nm 的 OD 值。细胞存活率 = (各组细胞 OD 值 $\div$ 对照组 OD 值) $\times$ 100%。实验重复 3 次,取均值。

1.7 MDA、SOD 水平的检测

对照组、高糖组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高糖组细胞培养 48 h 以后,收集细胞,用硫代巴比妥酸法检测 MDA 水平,黄嘌呤氧化酶法检测 SOD 水平,步骤参照试剂盒说明书。实验重复 3 次,取均值。

1.8 Western blot 测定细胞中 PCNA、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白的表达

对照组、高糖组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高糖组培养 48 h 以后,Western blot 检测细胞中 PCNA、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白水平,PCNA 一抗、p38MAPK 一抗、p-p38MAPK 一抗稀释倍数分别为:1:800、1:800、1:500。实验重复 3 次,取均值。

1.9 统计学分析

所有实验数据采用 SPSS21.0 软件进行分析,计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组差异比较采用单因素方差分析,进一步两组间

比较采用 SNK-q 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高糖对心肌细胞中 PARP-1 表达的影响

如图 1 和表 1 所示,高糖组细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平明显高于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

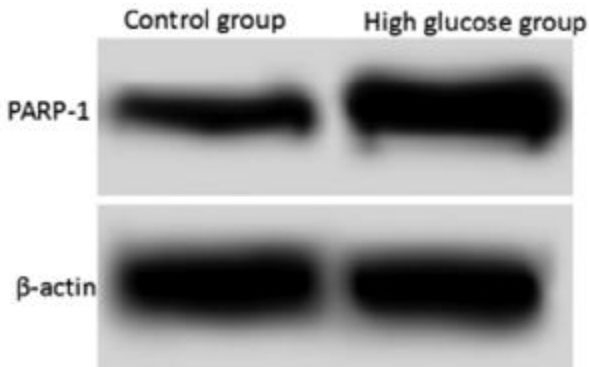


图 1 Western blot 检测高糖对心肌细胞中 PARP-1 蛋白表达的影响
Fig.1 The effect of high glucose on the expression of PARP-1 protein in cardiac myocytes detected by western blot

表 1 高糖作用后心肌细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白的表达($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 The level of PARP-1 mRNA and protein in cardiac myocytes induced by high glucose ($\bar{x} \pm s, n=3$)		
Groups	PARP-1 mRNA	PARP-1 protein
Control group	1.00	0.74 $\pm$ 0.05
High glucose group	2.18 $\pm$ 0.25*	1.28 $\pm$ 0.16*

注:与对照组相比,* $P<0.05$ 。

Note: compared with the control group, * $P<0.05$.

2.2 转染 PARP-1 siRNA 对心肌细胞 PARP-1 表达的影响

如图 2 和表 2 所示,PARP-1 si 组细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平明显低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。si-NC 组细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平与对照组相比没有明显变化,差异没有统计学意义($P>0.05$)。PARP-1 siRNA 可以降低心肌细胞中 PARP-1 的表达。

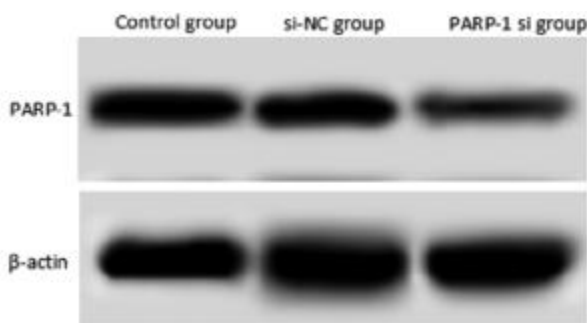


图 2 Western blot 检测转染后心肌细胞中 PARP-1 蛋白的表达
Fig.2 PARP-1 protein expression in cardiac myocytes after transfection detected by western blot

2.3 PARP-1 表达下调对高糖诱导的心肌细胞增殖的影响

如图 2 和表 2 所示,高糖组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高

糖组细胞存活率明显低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。si-NC+ 高糖组细胞存活率与高糖组相比没有明显变化,差异没有统计学意义($P>0.05$)。PARP-1 si+ 高糖组细胞存活率明显高于高糖组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。以上结果提示高糖可降低心肌细胞增殖能力,而下调 PARP-1 可以部分拮抗高糖对心肌细胞的增殖抑制作用。

表 2 转染后心肌细胞中 PARP-1 mRNA 和蛋白水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 PARP-1 mRNA and protein levels in cardiac myocytes after transfection($\bar{x} \pm s, n=3$)		
Groups	PARP-1 mRNA	PARP-1 protein
Control group	1.00	0.87 $\pm$ 0.05
si-NC group	1.02 $\pm$ 0.08 [#]	0.85 $\pm$ 0.08 [#]
PARP-1 si group	0.38 $\pm$ 0.05*	0.41 $\pm$ 0.06*
P	0.000	0.000

注:与对照组相比,* $P<0.05$;与对照组相比,[#] $P>0.05$ 。

Note: compared with the control group, * $P<0.05$; compared with the control group, [#] $P>0.05$.

表 3 PARP-1 表达下调对高糖诱导的心肌细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 The effect of down regulation of PARP-1 on the survival of cardiac myocytes induced by high glucose($\bar{x} \pm s, n=3$)	
Groups	Cell survival rate(%)
Control group	100.00
High glucose group	62.31 $\pm$ 5.07*
si-NC+High glucose group	59.46 $\pm$ 6.40* [#]
PARP-1 si+High glucose group	84.65 $\pm$ 9.13* [#]
P	0.000

注:与对照组相比,* $P<0.05$;与高糖组相比,[#] $P>0.05$;与高糖组相比,* $P<0.05$ 。

Note: compared with the control group, * $P<0.05$; compared with the High glucose group, [#] $P>0.05$; compared with the High glucose group, * $P<0.05$.

2.4 PARP-1 表达下调对高糖诱导的心肌细胞 MDA、SOD 水平的影响

如表 4 所示,高糖组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高糖组细胞中 MDA 水平明显高于对照组,SOD 水平明显低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。si-NC+ 高糖组 MDA、SOD 水平与高糖组相比没有明显变化,差异没有统计学意义($P>0.05$)。PARP-1 si+ 高糖组中 MDA 水平明显低于高糖组,SOD 水平明显高于高糖组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。以上结果提示高糖提高心肌细胞中 MDA 水平,促进脂质过氧化,降低细胞中 SOD 水平,而下调 PARP-1 可以部分拮抗高糖对心肌细胞的上述作用。

2.5 PARP-1 表达下调对高糖诱导的心肌细胞 PCNA、p38MAPK、p-p38MAPK 表达的影响

如图 3 和表 5 所示,高糖组、si-NC+ 高糖组、PARP-1 si+ 高糖组 p-p38MAPK 水平明显高于对照组,PCNA 水平明显低于

对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。si-NC+高糖组 PCNA、p-p38MAPK 水平与高糖组相比没有明显变化,差异没有统计学意义($P>0.05$)。PARP-1 si+高糖组中 p-p38MAPK 水平明显低于高糖组,PCNA 水平明显高于高糖组,差异具有统计学意义

表 4 PARP-1 表达下调对高糖诱导的心肌细胞 MDA、SOD 水平影响
($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 The effect of down regulation of PARP-1 on the levels of MDA and SOD in cardiac myocytes induced by high glucose($\bar{x} \pm s, n=3$)

Groups	MDA(nmol/mL)	SOD(U/mL)
Control group	0.53± 0.06	27.15± 2.36
High glucose group	2.84± 0.25*	13.47± 1.14*
si-NC+High glucose group	2.78± 0.22* [#]	14.08± 1.32* [#]
PARP-1 si+High glucose group	1.32± 0.11* ^{&}	20.94± 1.18* ^{&}
P	0.000	0.000

注:与对照组相比,* $P<0.05$;与高糖组相比,[#] $P>0.05$;与高糖组相比,[&] $P<0.05$ 。

Note: compared with the control group, * $P<0.05$; compared with the High glucose group, [#] $P>0.05$; compared with the High glucose group, [&] $P<0.05$ 。

表 5 PARP-1 表达下调对细胞中 PCNA、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白表达影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 The effect of down regulation of PARP-1 on the expression of PCNA, p38MAPK and p-p38MAPK protein in the cardiac myocytes induced by high glucose($\bar{x} \pm s, n=3$)

Groups	PCNA	p38MAPK	p-p38MAPK
Control group	0.98± 0.09	1.03± 0.14	0.15± 0.02
High glucose group	0.25± 0.03*	1.05± 0.13	0.89± 0.08*
si-NC+High glucose group	0.24± 0.04* [#]	1.02± 0.11	0.92± 0.07* [#]
PARP-1 si+High glucose group	0.48± 0.06* ^{&}	1.04± 0.14	0.44± 0.05* ^{&}
P	0.000	0.993	0.000

注:与对照组相比,* $P<0.05$;与高糖组相比,[#] $P>0.05$;与高糖组相比,[&] $P<0.05$ 。

Note: compared with the control group,* $P<0.05$; compared with the High glucose group, [#] $P>0.05$; compared with the High glucose group, [&] $P<0.05$ 。

3 讨论

糖尿病心肌病作为一种常见的糖尿病并发症,其主要表现为左心室收缩、舒张障碍,由高糖引起的心肌细胞损伤是糖尿病心肌病发病的重要原因^[7]。PARP-1 属于 PARP 聚合酶家族的成员之一,是 DNA 损伤的传感器,DNA 损伤后可以促进 PARP-1 的激活,而 PARP-1 激活后可以诱导 NAD⁺ 分解为腺苷二磷酸核糖、烟酰胺,PARP-1 过度减少会导致细胞内的 ATP 减少,诱发细胞能量失衡,对细胞产生毒害作用^[8-10]。研究表明 PARP-1 还参与心肌细胞氧化损伤,在心肌缺血再灌注、糖尿病心肌病等过程中具有重要作用^[11]。PARP-1 在糖尿病心肌病小鼠心肌组织中表达水平升高^[12]。本研究结果显示高糖作用后的心肌细胞中 PARP-1 的 mRNA 和蛋白水平均明显升高,说明 PARP-1 的表达上调可能参与了高糖诱导的心肌细胞增殖的抑制。

心肌细胞增殖能力下降,细胞数量过度减少是糖尿病心肌病发病机制之一^[13]。PCNA 是一种可以反映细胞增殖状态的细

胞增殖蛋白,其在细胞核内合成,在增殖的心肌细胞中表达上调^[14]。糖尿病心肌病对心肌组织的损伤除了与心肌细胞活性有关以外,还与心肌细胞氧化损伤有关,高糖诱导心肌组织氧化损伤,导致细胞内的脂质发生过氧化,而 MDA 是脂质过氧化的产物之一,检测细胞内 MDA 的水平可以间接反应细胞内脂质过氧化程度^[15-17]。SOD 可以清除细胞内多余的氧自由基,是细胞维持氧化平衡的重要蛋白酶^[18]。MDA 在糖尿病心肌病组织中表达上调,SOD 在糖尿病心肌病组织中表达下调^[19]。本研究结果显示高糖作用后的心肌细胞增殖活性降低,细胞中 MDA 水平升高,SOD 水平下降,而下调 PARP-1 表达可以部分拮抗高糖对心肌细胞的上述作用,说明 PARP-1 表达下调可以减弱高糖对心肌细胞的损伤。

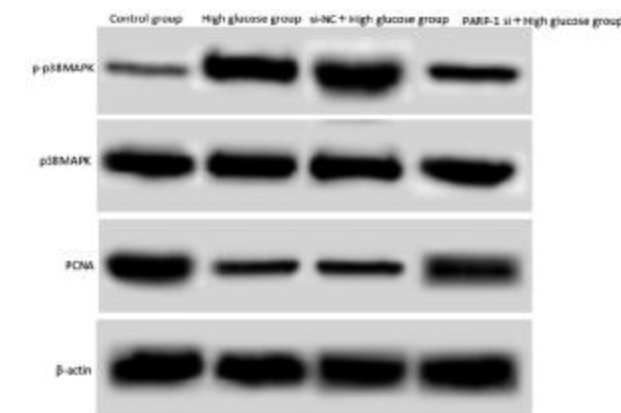


图 3 Western blot 检测 PARP-1 表达下调对高糖诱导的心肌细胞中 PCNA、p38MAPK、p-p38MAPK 蛋白表达的影响

Fig.3 The effect of down regulation of PARP-1 expression on the expression of PCNA, p38MAPK, p-p38MAPK protein in the cardiac myocytes induced by high glucose detected by Western blot

胞增殖蛋白,其在细胞核内合成,在增殖的心肌细胞中表达上调^[14]。糖尿病心肌病对心肌组织的损伤除了与心肌细胞活性有关以外,还与心肌细胞氧化损伤有关,高糖诱导心肌组织氧化损伤,导致细胞内的脂质发生过氧化,而 MDA 是脂质过氧化的产物之一,检测细胞内 MDA 的水平可以间接反应细胞内脂质过氧化程度^[15-17]。SOD 可以清除细胞内多余的氧自由基,是细胞维持氧化平衡的重要蛋白酶^[18]。MDA 在糖尿病心肌病组织中表达上调,SOD 在糖尿病心肌病组织中表达下调^[19]。本研究结果显示高糖作用后的心肌细胞增殖活性降低,细胞中 MDA 水平升高,SOD 水平下降,而下调 PARP-1 表达可以部分拮抗高糖对心肌细胞的上述作用,说明 PARP-1 表达下调可以减弱高糖对心肌细胞的损伤。

p38MAPK 是 MAPK 信号通路的一个重要分支,其具有调控细胞生长、增殖、凋亡等多种作用^[20]。近年来的研究显示 p38MAPK 与心血管疾病有关,在心肌细胞增殖等过程中具有重要作用^[21,22]。高糖作用后的心肌细胞中 p38MAPK 磷酸化水

平异常升高,而下调 p38MAPK 激活后可以促进高糖环境下的心肌细胞增殖,减少高糖对心肌细胞的损伤^[23]。本研究结果表明 PARP-1 下调后可以降低高糖环境下心肌细胞中 p38MAPK 磷酸化水平,说明 PARP-1 下调可能通过调控 p38MAPK 磷酸化水平影响心肌细胞增殖。

综上所述,高糖诱导心肌细胞表达 PARP-1,PARP-1 下调后可以降低高糖对心肌细胞增殖抑制作用,提高心肌细胞中的 SOD 水平,降低心肌细胞中 MDA 水平,作用机制可能与 p38MAPK 信号通路有关,这为探讨 PARP-1 在糖尿病心脏病中的作用奠定了基础。本研究存在一定的局限性,没有对其具体的作用机制进行验证,没有在多株细胞及原代细胞中进行验证,在后续实验中会对上述部分进行具体研究。

参考文献(References)

- [1] Varga Z V, Giricz Z, Liaudet L, et al. Interplay of oxidative, nitrosative/nitrative stress, inflammation, cell death and autophagy in diabetic cardiomyopathy [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2015, 1852(2): 232-242
- [2] Wang Y B, Ge Z M, Kang W Q, et al. Rutin alleviates diabetic cardiomyopathy in a rat model of type 2 diabetes [J]. *Experimental & Therapeutic Medicine*, 2015, 9(2): 451-455
- [3] Xu Z, Zhang L, Zhang W, et al. SIRT6 rescues the age related decline in base excision repair in a PARP1-dependent manner[J]. *Cell Cycle*, 2015, 14(2): 269-276
- [4] Huang J, Wang L, Cong Z, et al. The PARP1 inhibitor BMN 673 exhibits immunoregulatory effects in a Brca1 (-/-) murine model of ovarian cancer[J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2015, 463(4): 551-556
- [5] Lu Y, Piplani H, Mcallister S L, et al. Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Activation within the Cardiac Myocyte Limits Ischemia-reperfusion Injury in Rodents [J]. *Anesthesiology*, 2016, 125(6): 1171
- [6] 谢月群,王蕾,陈玲瓏,等. PARP-1 蛋白抑制剂降低 TNF- α 介导的人心肌细胞生长抑制和凋亡 [J]. *温州医科大学学报*, 2017, 47(9): 654-659
- [7] Bugger H, Abel E D. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(4): 660-671
- [8] Ménissier d M J, Ricoul M, Tartier L, et al. Functional interaction between PARP-1 and PARP-2 in chromosome stability and embryonic development in mouse[J]. *Embo Journal*, 2014, 22(9): 2255-2263
- [9] Bouchard V J, Rouleau M, Poirier G G. PARP-1, a determinant of cell survival in response to DNA damage [J]. *Experimental Hematology*, 2003, 31(6): 446-454
- [10] Pavri R, Lewis B, Kim T K, et al. PARP-1 determines specificity in a retinoid signaling pathway via direct modulation of mediator [J]. *Molecular Cell*, 2005, 18(1): 83-96
- [11] Pillai J B, Isbatan A, Imai S, et al. Poly (ADP-ribose) Polymerase-1-dependent Cardiac Myocyte Cell Death during Heart Failure Is Mediated by NAD⁺ Depletion and Reduced Sir2 α Deacetylase Activity [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280 (52): 43121-43130
- [12] Mangerich A, Herbach N, Hanf B, et al. Inflammatory and age-related pathologies in mice with ectopic expression of human PARP-1 [J]. *Mechanisms of Ageing & Development*, 2010, 131(6): 389-404
- [13] Feng J, Li X, Ma S, et al. SIRT1 Activation by Resveratrol Alleviates Cardiac Dysfunction via Mitochondrial Regulation in Diabetic Cardiomyopathy Mice [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 2017(2): 1-15
- [14] Yu Y L, Ruey-Hwang C, Liang J H, et al. Targeting the EGFR/PCNA Signaling Suppresses Tumor Growth of Triple-Negative Breast Cancer Cells with Cell-Penetrating PCNA Peptides [J]. *Plos One*, 2013, 8 (4): e61362
- [15] Voulgari C, Papadogiannis D, Tentolouris N. Diabetic cardiomyopathy: from the pathophysiology of the cardiac myocytes to current diagnosis and management strategies[J]. 2010, 6(6): 883-903
- [16] Sun X, Chen R C, Yang Z H, et al. Taxifolin prevents diabetic cardiomyopathy in vivo and in vitro by inhibition of oxidative stress and cell apoptosis[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2014, 63(1): 221-32
- [17] Bingong L I, Jian X, Yong L I, et al. Gene transfer of human neuregulin-1 attenuates ventricular remodeling in diabetic cardiomyopathy rats[J]. *Experimental & Therapeutic Medicine*, 2013, 6(5): 1105-1112
- [18] Rui T, Cepinskas G, Feng Q, et al. Delayed preconditioning in cardiac myocytes with respect to development of a proinflammatory phenotype: role of SOD and NOS[J]. *Cardiovascular Research*, 2003, 59(4): 901-911
- [19] Wu B, Lin J, Luo J, et al. Dihydromyricetin Protects against Diabetic Cardiomyopathy in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice[J]. *Biomed Research International*, 2017, 2017(1): 1-13
- [20] Li H, Zhou S, Wu L, et al. The role of p38MAPK signal pathway in the neuroprotective mechanism of limb postconditioning against rat cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Journal of the Neurological Sciences*, 2015, 357(2): 270-275
- [21] 王蒙,陈绍良.P38MAPK 信号通路与心血管疾病关系的研究进展 [J].*现代生物医学进展*, 2012, 12(30): 5968-5970
- [22] 钱文浩,李东野,於江泉,等.p38MAPK 表达在冠心病患者冬眠心肌细胞凋亡的意义[J].*临床心血管病杂志*, 2008, 24(3): 210-212
- [23] 徐文明,陈景福,田丽红,等.瘦素 -p38MAPK 通路介导高糖对 H9c2 心肌细胞的损伤[J].*中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(5): 433-437