

心脏疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002139

槲皮素通过调节 SIRT1/NF- κ B 通路抑制压力超负荷大鼠左心室肥厚

杨荣培, 刘增长

(重庆医科大学附属第二医院心血管内科, 重庆 400010)

【摘要】目的:通过动物实验探讨槲皮素对压力超负荷大鼠左心室肥厚的保护作用及其可能机制。**方法:**通过腹主动脉缩窄手术(abdominal aorta stenosis, AAC)构造大鼠左心室肥厚模型。将造模的 40 只 SD 大鼠随机分为假手术组(Sham 组)、AAC 组、槲皮素组(Quercetin 组)、EX527 组, 每组 10 只。Sham 组、AAC 组每日给予生理盐水灌胃和腹腔注射治疗; Quercetin 组给予槲皮素 50 mg/(kg·d)进行灌胃和生理盐水腹腔注射治疗; EX527 组给予 SIRT1 特异性抑制剂 EX527 5 mg/(kg·d)腹腔注射和槲皮素 50 mg/(kg·d)灌胃治疗。4 周后, 计算心脏质量参数; 超声心动图检测心脏功能、左心室后壁厚度; Masson 染色检测心肌纤维化程度; 免疫组织化学染色和蛋白质印迹法检测 I 型胶原(collagen type I, Col I)、III 型胶原(collagen III, Col III)、沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1)、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的蛋白表达。**结果:**槲皮素可增强 SIRT1 的蛋白表达 (Sham 组: 1.000 ± 0.000 , AAC 组: 0.364 ± 0.071 , Quercetin 组: 1.138 ± 0.070 , EX527 组: 0.293 ± 0.092 , $F=240.539$, $P=0.000$), 降低心脏质量(Sham 组: 1.139 ± 0.053 , AAC 组: 1.300 ± 0.056 , Quercetin 组: 0.998 ± 0.085 , EX527 组: 0.924 ± 0.054 , $F=47.296$, $P=0.000$)、左室后壁厚度(Sham 组: 1.587 ± 0.136 , AAC 组: 2.657 ± 0.355 , Quercetin 组: 1.800 ± 0.200 , EX527 组: 2.700 ± 0.306 , $F=37.304$, $P=0.001$)和心肌纤维化程度(Sham 组: 8.515 ± 1.343 , AAC 组: 23.832 ± 1.095 , Quercetin 组: 13.260 ± 0.674 , EX527 组: 24.162 ± 1.312 , $F=278.741$, $P=0.000$), 降低 Col I (Sham 组: 1.000 ± 0.000 , AAC 组: 3.132 ± 0.372 , Quercetin 组: 1.556 ± 0.164 , EX527 组: 2.819 ± 0.368 , $F=82.083$, $P=0.000$)、Col III (Sham 组: 1.000 ± 0.000 , AAC 组: 2.395 ± 0.437 , Quercetin 组: 1.583 ± 0.287 , EX527 组: 2.434 ± 0.461 , $F=23.608$, $P=0.024$)、NF- κ B(Sham 组: 1.000 ± 0.000 , AAC 组: 5.498 ± 0.642 , Quercetin 组: 3.637 ± 0.715 , EX527 组: 5.125 ± 0.682 , $F=79.912$, $P=0.005$)蛋白的表达; EX527 的使用降低了 SIRT1 蛋白的表达($P=0.000$), 增加了心脏质量($P=0.001$)、左室后壁厚度($P=0.000$)和心肌纤维化程度($P=0.000$), 增加了 Col I、Col III、NF- κ B 蛋白的表达($P=0.001$, $P=0.024$, $P=0.023$)。结论: 槲皮素可减轻压力超负荷大鼠左心室肥厚程度, 其机制与调节 SIRT1/NF- κ B 通路有关。

【关键词】槲皮素; 腹主动脉缩窄术; 左心室肥厚**【中图分类号】**R542.2*3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-09-08Quercetin inhibits left ventricular hypertrophy in pressure-overload rats by regulating the SIRT1/NF- κ B pathway

Yang Rongpei, Liu Zengzhang

(Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the protective effect of quercetin against left ventricular hypertrophy in overload-pressure rats and possible mechanism through an animal experiment. **Methods:** Abdominal aorta coarctation(AAC) was performed to establish a rat model of left ventricular hypertrophy. After modeling, 40 Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham-operation group, AAC group, quercetin group, and EX527 group, with 10 rats in each group. The rats in the sham-operation group and the AAC group were given normal saline by gavage and intraperitoneal injection every day, those in the quercetin group were given 50 mg/(kg·d) quercetin by gavage and intraperitoneal injection of normal saline every day, and those in the EX527 group were given intraperitoneal injection of 5 mg/(kg·d) EX527, an SIRT1 specific inhibitor, and 50 mg/(kg·d) quercetin by gavage every day. After 4 weeks

of intervention, heart mass index was calculated; echocardiography was performed to evaluate cardiac function and left ventricular posterior wall thickness; Masson staining was performed to observe the degree of myocardial fibrosis; immunohistochemical staining and Western blot were used to measure the protein expression of collagen type I (Col I), collagen III (Col III), silent

作者介绍: 杨荣培, Email: 974614129@qq.com,

研究方向: 心室重构、心肌纤维化。

通信作者: 刘增长, Email: Liuzengzhang666@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号: 81400004)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190510.1503.042.html>

(2019-05-13)

information regulator 1 (SIRT1), and nuclear factor- κ B (NF- κ B). **Results:** Quercetin increased the protein expression of SIRT1 (1.000 ± 0.000 in the sham-operation group, 0.364 ± 0.071 in the AAC group, 1.138 ± 0.070 in the quercetin group, and 0.293 ± 0.092 in the EX527 group; $F=240.539, P=0.000$) and reduced heart mass (1.139 ± 0.053 in the sham-operation group, 1.300 ± 0.056 in the AAC group, 0.998 ± 0.085 in the quercetin group, and 0.924 ± 0.054 in the EX527 group; $F=47.296, P=0.000$), left ventricular posterior wall thickness (1.587 ± 0.136 in the sham-operation group, 2.657 ± 0.355 in the AAC group, 1.800 ± 0.200 in the quercetin group, and 2.700 ± 0.306 in the EX527 group; $F=37.304, P=0.001$), and the degree of myocardial fibrosis (8.515 ± 1.343 in the sham-operation group, 23.832 ± 1.095 in the AAC group, 13.260 ± 0.674 in the quercetin group, and 24.162 ± 1.312 in the EX527 group; $F=278.741, P=0.000$). It also reduced the protein expression of Col I (1.000 ± 0.000 in the sham-operation group, 3.132 ± 0.372 in the AAC group, 1.556 ± 0.164 in the quercetin group, and 2.819 ± 0.368 in the EX527 group; $F=82.083, P=0.000$), Col III (1.000 ± 0.000 in the sham-operation group, 2.395 ± 0.437 in the AAC group, 1.583 ± 0.287 in the quercetin group, and 2.434 ± 0.461 in the EX527 group; $F=23.608, P=0.024$), and NF- κ B (1.000 ± 0.000 in the sham-operation group, 5.498 ± 0.642 in the AAC group, 3.637 ± 0.715 in the quercetin group, and 5.125 ± 0.682 in the EX527 group; $F=79.912, P=0.005$). The use of EX527 reduced the protein expression of SIRT1 ($P=0.000$), increased heart mass, left ventricular posterior wall thickness, and degree of myocardial fibrosis ($P=0.001, P=0.000, P=0.000$), and upregulated the protein expression of Col I, Col III, and NF- κ B ($P=0.001, P=0.024, P=0.023$). **Conclusion:** Quercetin can reduce the degree of left ventricular hypertrophy in overload-pressure rats, possibly by regulating the SIRT1/NF- κ B pathway.

[Key words] quercetin; abdominal aortic coarctation; left ventricular hypertrophy

我国心血管病 (cardiovascular disease, CVD) 防治工作已取得初步成效,但仍面临严峻挑战。总体上看,中国 CVD 患病率及死亡率仍处于上升阶段。CVD 目前的患病人数高达 2.9 亿,死亡人数占有疾病死亡人数的 40% 以上,居首位,高于肿瘤及其他疾病^[1]。

左心室肥厚 (left ventricular hypertrophy, LVH) 是一种心室壁增厚、心肌质量增加和心肌重塑的病理过程^[2]。LVH 被强调为 CVD 猝死的关键预测因子和独立危险因素^[3]。现有研究表明,逆转 LVH 可明显降低心血管事件及死亡风险^[4]。目前临床用于治疗 LVH 的药物主要包括血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻断剂、钙通道拮抗剂、 β 受体阻断剂和利尿剂等^[5]。虽然用于治疗 LVH 的药物种类繁多,但能达到理想治疗效果的药物甚少。并且西药的作用靶点单一、副作用巨大、成本较高,因此探索能抑制 LVH 且副作用小、价格低廉的多靶点传统药物及其新治疗靶点具有重要意义。

槲皮素存在于许多水果和蔬菜中,是天然分布最广的生物类黄酮之一^[6]。在流行病学研究中,增加膳食中黄酮类化合物摄入量的同时降低了心血管疾病的风险。黄酮类化合物的生物学作用非常广泛,包括抗炎^[7]、抗氧化^[8]、抗动脉粥样硬化^[9]和抗高血压^[10],这些特性决定了槲皮素在心血管疾病预防

中的重要作用。已有研究表明,槲皮素可以强烈抑制体内心肌细胞的肥大^[11]。各种药理学研究证实,槲皮素可以改善自发性高血压大鼠的内皮功能障碍和心脏肾脏等终末器官损伤^[12]。然而,槲皮素发挥其心脏保护作用的分子机制仍然在很大程度上未知。本研究的目的是阐明槲皮素对 LVH 保护作用的潜在机制,并进一步研究槲皮素参与 LVH 的生物学靶点。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只,体质量 (body weight, BW) 为 (200 ± 20) g,由重庆医科大学实验动物中心提供。实验动物许可证号:SYXK(渝)2017-0023。实验方案均已通过重庆医科大学伦理委员会许可。

1.2 主要试剂

槲皮素 (Sigma 公司,美国); EX527 (MedChemExpress 公司,美国); 小鼠来源的单克隆 Col I、Col III 抗体 (Proteintech 公司,中国武汉); SIRT1、NF- κ B 抗体 (Cell Signaling Technology, 美国); GADPH 抗体、Hrp 标记山羊抗兔二抗、Hrp 标记山羊抗小鼠二抗 (Proteintech 公司,中国武汉)。Masson 三色染色试剂盒 (Solarbio 公司,中国北京)。

1.3 主要仪器

小动物超声仪 (Esaote 公司,意大利); 凝胶成像系统 (Bio-Rad 公司,美国); 电泳仪、电泳槽 (Bio-Rad 公司,美国); 荧光

显微镜(Olympus 公司,日本)。

1.4 动物模型建立及分组

SPF 级雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后,给予 1%浓度的戊巴比妥钠(0.35 mL/100 g)腹腔注射,待大鼠麻醉后仰面固定于操作台。消毒皮毛,正中中线逐层打开腹腔,分离腹主动脉,用 21G 针头(直径 0.7 mm)平行放置于腹主动脉上,将 4 号手术线从腹主动脉背侧穿出,共同结扎针头和腹主动脉后迅速移去针头,逐层关闭腹腔。Sham 组不结扎手术线。将造模成功的大鼠随机分为 AAC 组(每日给予生理盐水灌胃和腹腔注射治疗);Quercetin 组[槲皮素 50 mg/(kg·d)^[13-14]进行灌胃和生理盐水腹腔注射治疗];EX527 组[SIRT1 特异性抑制剂 EX527 5 mg/(kg·d)^[15-16]腹腔注射和槲皮素 50 mg/(kg·d)灌胃治疗]。每组 10 只。4 周之后,将剩余大鼠进行超声检测并取出心脏标本进行其他检测。

1.5 超声心动图检测

术后 4 周,用小动物超声仪进行各组心脏功能相关指标检测,包括左室舒张期末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVDd)、左室收缩期末内径(left ventricular end-systolic diameter, LVDs)、左室收缩期末后壁厚度、左室舒张期末后壁厚度。根据公式 $LVEF = [(LVDd^3 - LVDs^3) / LVDd^3] \times 100\%$ 计算左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF);根据公式 $LVFS = [(LVDd - LVDs) / LVDd] \times 100\%$ 计算左室短轴缩短率(left ventricular fraction shortening, LVFS)。测定完毕,取出心脏进行组织学检查。

1.6 Masson 染色

术后 4 周取出心室肌组织浸泡于 4%多聚甲醛中。包埋、切片后用二甲苯和梯度浓度酒精脱蜡水化后用苏木素、丽春红酸性复红液、苯胺蓝进行染色。然后经梯度浓度酒精脱水、二甲苯透明后,用中性树脂胶封片。最终胶原纤维呈蓝色,心肌组织呈红色,胞核呈蓝褐色。用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件检测纤维化面积占整个切面面积的百分率。

1.7 免疫组织化学染色

将切好的厚度为 4 μm 的心室肌组织切片脱蜡、水化后用 3%过氧化氢封闭内源性过氧化物酶;然后用兔血清封闭

后,分别与 Col I、Col III、SIRT1、NF-κB 抗血清 4 ℃冰箱孵育过夜。一抗孵育后进行二抗处理,然后进行 DAB 显色。棕黄色为目的蛋白的免疫化学阳性染色。用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件检测心肌组织目的蛋白阳性染色的光密度值。

1.8 蛋白质印迹法

收集各组左心室心室肌,反复生理盐水冲洗后用蛋白提取试剂盒进行蛋白提取,使用 BCA 法测蛋白浓度。将电泳后的分离胶转到 PVDF 膜上,5%的脱脂奶粉封闭 90 min 后, TBST 洗 4 次,每次 5 min。加入一抗(1:1 000)4 ℃孵育过夜, TBST 洗 4 次,每次 5 min 后与二抗(1:1 000)共同孵育 90 min。然后 TBST 洗 4 次后曝光。以 GADPH 为内参,图片用 Image lab 软件进行目的蛋白相对含量分析。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。所有数据均符合正态分布用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较若方差齐则采用 LSD-*t* 检验;若方差不齐则采用 Dunnett T3 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

腹主动脉缩窄术前,Sham 组、Quercetin 组各因麻醉过量死亡 2 只;术后因感染死亡 2 只;而 AAC 组、EX527 组在喂养过程中各死亡 3 只。据研究,大鼠 AAC 导致左室心肌肥厚,出现左室单向动作电位时程延长、ERP 延长、ALT 发生提前等电生理特性改变,更易诱发出室性心律失常^[17]。该组大鼠在喂养第 4 周出现猝死,而此阶段大鼠还未到达心衰水平,推测其死于室性心律失常。

2.1 槲皮素对压力超负荷大鼠心脏左室后壁厚度的影响

超声结果显示,AAC 组左室后壁厚度明显增加;槲皮素治疗后大鼠左室后壁增厚程度明显减弱;EX527 的使用使槲皮素的保护作用被抑制,差异均有统计学意义(AAC 组与 Sham 比较, $P=0.001$; Quercetin 组与 AAC 比较, $P=0.002$; EX527 组与 Quercetin 组比较, $P=0.000$)(图 1、表 1)。各组间心功能没有改变, LVEF、LVFS 均没有统计学差异(表 1)。

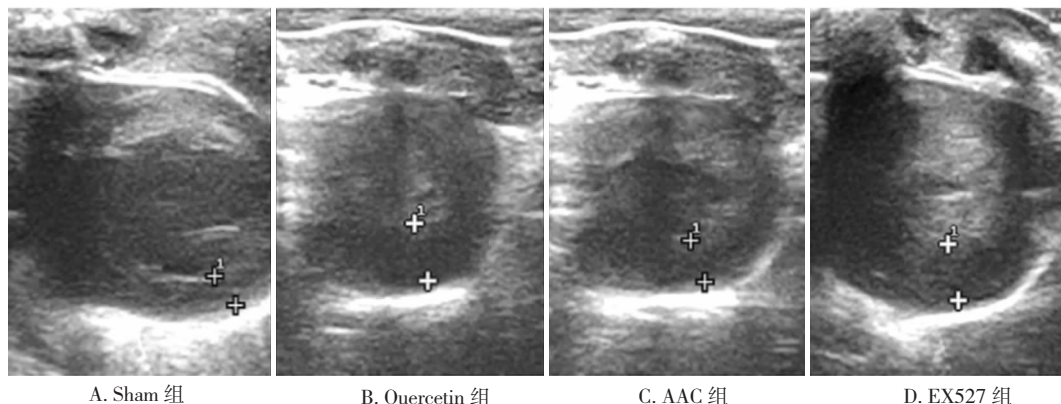


图 1 各组大鼠左室后壁厚度的变化

表 1 各组大鼠心脏超声数据比较

组别	左室后壁厚度 (mm)	LVEF (%)	LVFS (%)
Sham组 (n=8)	1.587 ± 0.136	0.900 ± 0.056	0.551 ± 0.093
AAC组 (n=7)	2.657 ± 0.355 ^a	0.942 ± 0.050	0.637 ± 0.102
Quercetin组 (n=8)	1.800 ± 0.200 ^b	0.897 ± 0.058	0.547 ± 0.092
EX527组 (n=7)	2.700 ± 0.306 ^c	0.964 ± 0.021	0.679 ± 0.063
F 值	37.304	3.154	4.066
P 值	0.001	0.107	0.073

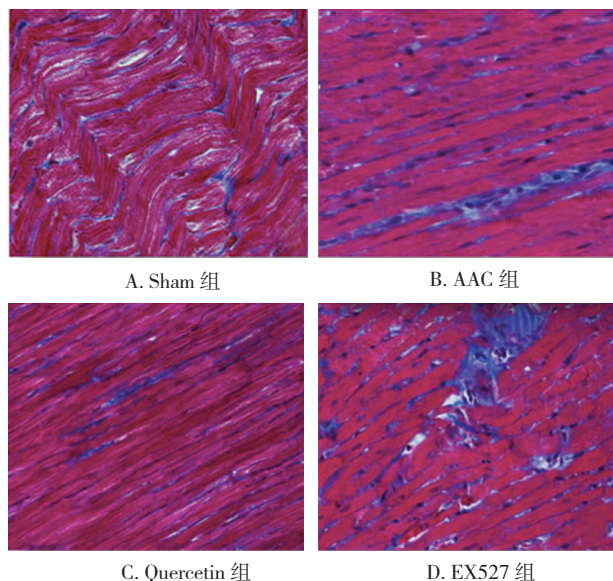
注:a,与 Sham 组比较, $P=0.001$;b:与 AAC 组比较, $P=0.002$;c:与 Quercetin 组比较, $P=0.000$

2.2 槲皮素对压力超负荷大鼠心脏质量参数的影响

AAC 组的心脏质量(heart weight, HW)、HW/BW、左心室质量(left ventricular mass, LVM)/BW 与 Sham 组相比均明显增高,具有统计学意义($P=0.000$ 、 $P=0.000$ 、 $P=0.004$);Quercetin 组的 HW、HW/BW、LVM/BW 与 AAC 组相比均降低,均有统计学意义($P=0.000$ 、 $P=0.000$ 、 $P=0.013$);EX527 组的心脏质量、HW/BW、LVM/BW 与 Quercetin 组比较明显增加,具有统计学意义($P=0.037$ 、 $P=0.028$ 、 $P=0.007$),见表 2。

2.3 槲皮素对压力超负荷大鼠心肌纤维化的影响

Sham 组心肌纤维化面积占整个心肌面积的(8.515 ± 1.343)%,AAC 组心肌纤维化面积占整个心肌面积的(23.832 ± 1.095)%,Quercetin 组心肌纤维化面积占整个心肌面积的(13.260 ± 0.674)%,EX527 组心肌纤维化面积占整个心肌面积的(24.162 ± 1.312)%。与 Sham 组比较,AAC 组的心肌纤维化面积明显增加($P=0.000$);与 AAC 组比较,Quercetin 组的心肌纤维化面积明显减少($P=0.000$);与 Quercetin 组比较,EX527 组的心肌纤维化面积增加($P=0.000$),均具有统计学差异($F=278.741$, $P=0.000$)。如图 2 所示。



注:蓝色为纤维化组织,红色为细胞质,黑色为细胞核

图 2 各组大鼠心肌组织 Masson 染色结果 (400 ×)

2.4 槲皮素对压力超负荷大鼠 Col I、Col III、SIRT1、NF-κB 蛋白表达的影响

AAC 组与 Sham 组相比,SIRT1 的光密度值明显降低,NF-κB 的光密度值增加,Col I、Col III 的光密度值增加,差异均具有统计学意义(均 $P=0.000$)。Quercetin 组与 AAC 组相比,SIRT1 的光密度值增加,NF-κB 的光密度值降低,Col I、Col III 的光密度值降低,差异均具有统计学意义(均 $P=0.000$)。EX527 组与 Quercetin 组相比,SIRT1 的光密度值降低,NF-κB 的光密度值增加,Col I、Col III 的光密度值增加,差异均具有统计学意义(均 $P=0.000$)。如表 3、图 3 所示。

表 2 各组大鼠心脏指数比较

组别	BW	HW	LVM	HW/BW	LVM/BW
Sham组 (n=8)	449.625 ± 23.772	1.139 ± 0.053	362.195 ± 59.311	2.535 ± 0.088	0.808 ± 0.137
AAC组 (n=7)	320.857 ± 11.423 ^{a1}	1.300 ± 0.056 ^{a2}	601.313 ± 136.714 ^{a3}	4.053 ± 0.138 ^{a4}	1.883 ± 0.471 ^{a5}
Quercetin组 (n=8)	360.500 ± 25.428 ^{b1}	0.998 ± 0.085 ^{b2}	369.029 ± 47.422 ^{b3}	2.775 ± 0.272 ^{b4}	1.022 ± 0.090 ^{b5}
EX527组 (n=7)	293.143 ± 17.073 ^{c1}	0.924 ± 0.054 ^{c2}	550.627 ± 102.258 ^{c3}	3.155 ± 0.124 ^{c4}	1.893 ± 0.419 ^{c5}
F 值	83.619	47.296	13.673	109.077	24.433
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004

注:与 Sham 组比较,a1: $P=0.000$,a2: $P=0.000$,a3: $P=0.000$,a4: $P=0.000$,a5: $P=0.004$;与 AAC 组比较,b1: $P=0.001$,b2: $P=0.000$,b3: $P=0.000$,b4: $P=0.000$,b5: $P=0.013$;与 Quercetin 组比较,c1: $P=0.000$,c2: $P=0.037$,c3: $P=0.001$,c4: $P=0.028$,c5: $P=0.007$

表 3 槲皮素对压力超负荷大鼠心肌各蛋白的光密度值比较

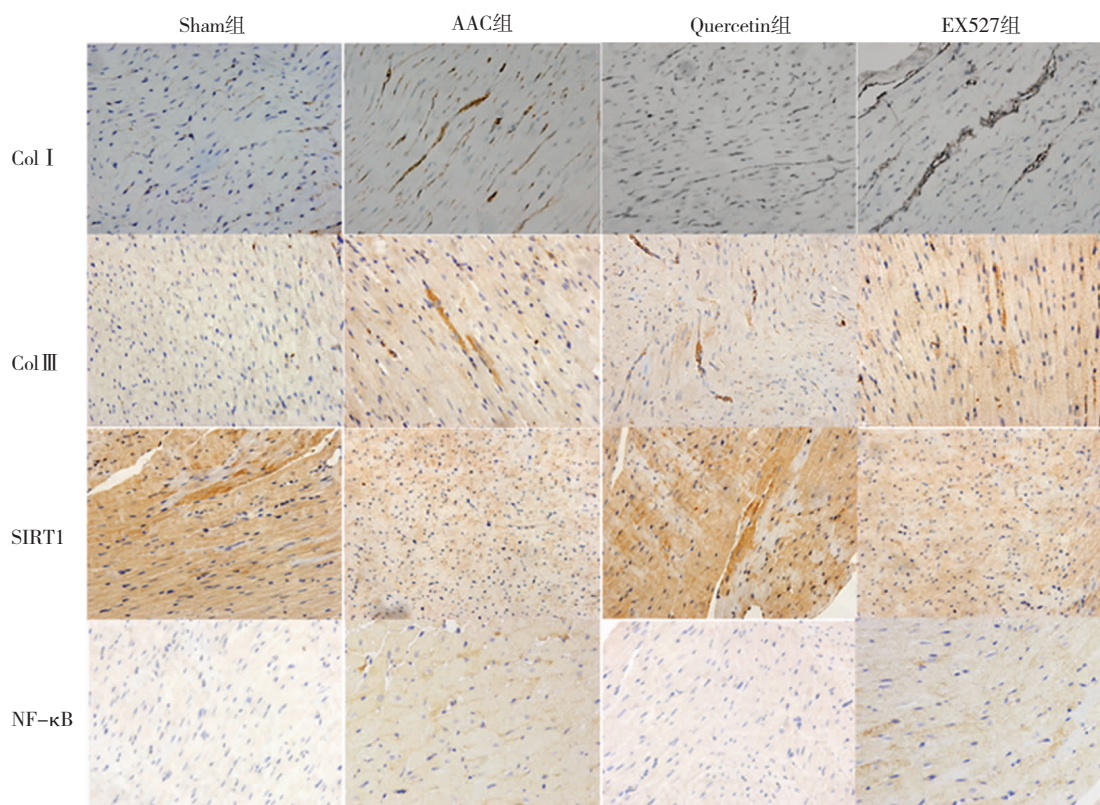
组别	Col I	Col III	SIRT1	NF-κB
Sham组	3 765.752 ± 505.278	4 261.164 ± 507.693	23 701.168 ± 3 100.185	2 530.321 ± 377.532
AAC组	11 796.476 ± 933.511 ^a	11 409.543 ± 1 047.351 ^a	4 924.669 ± 1 137.110 ^a	14 238.663 ± 2 331.781 ^a
Quercetin组	6 248.666 ± 210.272 ^b	6 114.741 ± 590.643 ^b	14 604.089 ± 1 086.609 ^b	4 771.494 ± 814.943 ^b
EX527组	10 115.297 ± 1 142.008 ^c	11 198.434 ± 934.106 ^c	4 843.300 ± 1 203.469 ^c	14 293.541 ± 2 340.220 ^c
F 值	128.905	121.566	144.815	78.629
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注:a,与 Sham 相比, $P=0.000$;b:与 AAC 相比, $P=0.000$;c:与 Quercetin 组相比, $P=0.000$

2.5 槲皮素对压力超负荷大鼠 Col I、Col III、SIRT1、NF- κ B 蛋白表达的影响

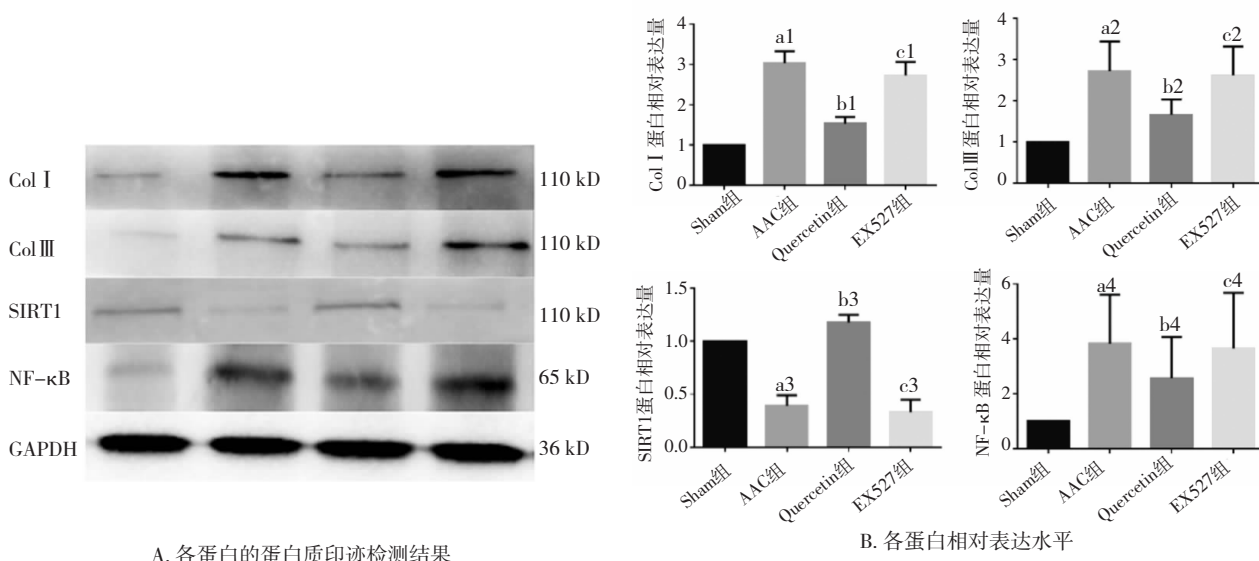
与 Sham 组比较, AAC 组的 SIRT1 表达降低, NF- κ B、Col I、Col III 的表达明显增加, 差异均有统计学意义 ($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.003$)。槲皮素治疗过后, 与 AAC 组比较,

SIRT1 的表达明显增加, NF- κ B、Col I、Col III 的表达减少, 差异均具有统计学意义 ($P=0.000$, $P=0.005$, $P=0.000$, $P=0.024$)。而使用 EX527 后, 与 Quercetin 组比较, SIRT1 蛋白表达被抑制, NF- κ B、Col I、Col III 的表达增加, 均具有统计学差异 ($P=0.000$, $P=0.023$, $P=0.001$, $P=0.024$)。如图 4、表 4 所示。



注: 棕褐色为心肌组织 Col I、Col III、SIRT1、NF- κ B 的阳性染色结果, 蓝色为细胞核

图 3 各组大鼠心肌组织中 Col I、Col III、SIRT1、NF- κ B 免疫组化染色结果 (400 $\times$)



注: 与 Sham 组比较, a1: $P=0.000$, a2: $P=0.003$, a3: $P=0.000$, a4: $P=0.000$; 与 AAC 组比较, b1: $P=0.000$, b2: $P=0.024$, b3: $P=0.000$, b4: $P=0.005$; 与 Quercetin 组比较, c1: $P=0.001$, c2: $P=0.024$, c3: $P=0.000$, c4: $P=0.023$

图 4 槲皮素对压力超负荷大鼠心肌各蛋白的蛋白质印迹检测结果

表 4 槲皮素对压力超负荷大鼠心肌各蛋白的蛋白质印迹检测结果

组别	Col I	Col III	SIRT1	NF- κ B
Sham组	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000
AAC组	3.132 $\pm$ 0.372 ^{a1}	2.395 $\pm$ 0.437 ^{a2}	0.364 $\pm$ 0.071 ^{a3}	5.498 $\pm$ 0.642 ^{a4}
Quercetin组	1.556 $\pm$ 0.164 ^{b1}	1.583 $\pm$ 0.287 ^{b2}	1.138 $\pm$ 0.070 ^{b3}	3.637 $\pm$ 0.715 ^{b4}
EX527组	2.819 $\pm$ 0.368 ^{c1}	2.434 $\pm$ 0.461 ^{c2}	0.293 $\pm$ 0.092 ^{c3}	5.125 $\pm$ 0.682 ^{c4}
F 值	82.083	23.608	240.539	71.912
P 值	0.000	0.003	0.000	0.000

注:与 Sham 组比较,a1:P=0.000,a2:P=0.003,a3:P=0.000,a4:P=0.000;与 AAC 组比较,b1:P=0.000,b2:P=0.024,b3:P=0.000,b4:P=0.005;与 Quercetin 组比较,c1:P=0.001,c2:P=0.024,c3:P=0.000,c4:P=0.023

3 讨论

LVH 主要由心脏质量增加、左心室壁厚度增加、心肌纤维化程度增加 3 部分组成。本研究通过腹主动脉缩窄术导致左心室后负荷增加,由此构造 LVH 模型。造模 4 周后,AAC 组大鼠心脏增大增重;左室后壁厚度明显增加;蓝色胶原纤维的面积占整个心肌百分比增加。由此可见腹主动脉缩窄术后 4 周可致大鼠左心室肥厚,LVH 模型构造成功。超声心动图结果显示的 LVEF、LVFS 指标没有统计学意义,进一步说明 LVH 是一种代偿性、适应性反应。它使心脏结构改变早于功能改变^[18]。有研究报道,腹主动脉缩窄术后 4 周即能造成大鼠 LVH;而到达心衰水平则需要 8 周^[9]。槲皮素使用后,大鼠心脏质量明显减轻、左心室后壁厚度明显降低、心肌纤维化程度减轻。由此看出,槲皮素对机械原因所致的大鼠 LVH 具有保护作用。

Col I、Col III 增加是心肌纤维化的主要指标^[20]。造模成功后,SIRT1 的蛋白表达量下降,Col I、Col III 的蛋白表达量明显增加;槲皮素的使用使 SIRT1 蛋白表达量明显增加,Col I、Col III 的表达量下降;而 SIRT1 特异性抑制剂 EX527 的使用使 Col I、Col III 的表达量再次增加,阻断了槲皮素的保护作用。由此可见,槲皮素对抗心肌纤维化的作用与其增加 SIRT1 蛋白的表达相关。

SIRT1 是 Sirtuins 去乙酰化酶家族中的一员,参与众多基因转录、能量代谢及细胞衰老过程的调节^[21]。越来越多的研究证明,SIRT1 在器官纤维化中的保护作用与其对抗氧化应激和炎症作用有关^[22]。NF- κ B 是一种介导细胞内信号转导的核转录因子,在炎症反应中起重要作用,而炎症反应是心肌纤维

化的重要环节^[23-24]。据报道,SIRT1 的激活能使 NF- κ B 的 Re-1A/p65 亚单位去乙酰化,抑制其与 NF- κ B 启动子结合,从而干扰 NF- κ B 的信号转导来减少氧自由基的产生,最终起到抗炎作用^[25]。造模 4 周后,腹主动脉缩窄术组的 SIRT1 蛋白表达水平降低,NF- κ B 蛋白的表达水平明显增高;槲皮素使用后,SIRT1 表达增加,NF- κ B 表达降低;SIRT1 特异性抑制剂 EX527 使 SIRT1 表达被抑制,NF- κ B 的表达再次增高,槲皮素的保护作用被阻断。由此可见,槲皮素对左心室肥厚的逆转作用与上调 SIRT1/NF- κ B 通路相关。

槲皮素是一种生物来源的类黄酮化合物,广泛存在于洋葱、红酒、苹果等食物中,由于槲皮素价格低廉、天然无副作用的可食用性质,可开发作为药物候选物或营养食品,用于预防和管理心脏疾病。本研究为槲皮素预防左心室肥厚提供了理论基础,为心脏疾病的预防与治疗提供了新思路,但槲皮素逆转 LVH 的具体机制还有待进一步研究。

志谢

感谢重庆医科大学附属第二医院心内科研究生刘凤、赖银川、李英瑞,博士陈芸霖、曹黎、施建丽、李郁等在实验技术上的指导和帮助。感谢消化内科刘凤超博士在文章撰写上的指导。感谢导师刘增长副教授、童瑾副教授从选题到论文发表给予的指导与帮助。

参 考 文 献

- [1] 李惠君,杨跃进,蒋立新,等.《中国心血管病报告 2017》概要[J].中国循环杂志,2018,33(1):1-8.
- [2] 孙宁玲,Jaw-Wen Chen,王继光,等.亚洲高血压合并左心室肥厚诊治专家共识[J].中华高血压杂志,2016,24(7):619-627.

- [3] Prathapan A, Varghese MV, Abhilash S, et al. Polyphenol rich ethanolic extract from *Boerhavia diffusa* L. mitigates angiotensin II induced cardiac hypertrophy and fibrosis in rats[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 87:427–436.
- [4] Devereux RB. Therapeutic options in minimizing left ventricular hypertrophy[J]. Am Heart J, 2000, 139(1Pt2):S9–14.
- [5] 朱广旋, 左建丽, 许林, 等. 中药有效成分逆转左室心肌肥厚的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(17):228–234.
- [6] Formica JV, Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids[J]. Food Chem Toxicol, 1995, 33(12):1061–1080.
- [7] Angeloni C, Hrelia S. Quercetin reduces inflammatory responses in LPS-stimulated cardiomyoblasts[J]. Oxid Med Cell Longev, 2012, 2012: 837104.
- [8] Zhang M, Swarts SG, Yin L, et al. Antioxidant properties of quercetin[J]. Adv Exp Med Biol, 2011, 701:283–289.
- [9] Kleemann R, Verschuren L, Morrison M, et al. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human *in vitro* and *in vivo* models[J]. Atherosclerosis, 2011, 218(1):44–52.
- [10] Duarte J, Perez-Palencia R, Vargas F, et al. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats[J]. Br J Pharmacol, 2001, 133(1):117–124.
- [11] Han JJ, Hao J, Kim CH, et al. Quercetin prevents cardiac hypertrophy induced by pressure overload in rats[J]. J Vet Med Sci, 2009, 71(6):737–743.
- [12] Williamson G. The role of polyphenols in modern nutrition[J]. Nutr Bull, 2017, 42(3):226–235.
- [13] Liu X, Chen H, Zhu W, et al. Transplantation of SIRT1 engineered aged mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat myocardial infarction model[J]. J Heart Lung Transplant, 2014, 33(10):1083–1092.
- [14] Wang R, Zhang H, Wang YY, et al. Inhibitory effects of quercetin on the progression of liver fibrosis through the regulation of NF- κ B/I κ B α , p38 MAPK, and Bcl-2/Bax signaling[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 47(10):126–133.
- [15] Ren J, Li J, Liu X, et al. Quercetin inhibits fibroblast activation and kidney fibrosis involving the suppression of mammalian target of rapamycin and β -catenin signaling[J]. Sci Rep, 2016, 6:23968.
- [16] Kabirifar R, Ghoresli ZA, Safari F, et al. Quercetin protects liver injury induced by bile duct ligation via attenuation of Rac1 and NADPH oxidase1 expression in rats[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2017, 16(1):88–95.
- [17] 李然, 单迎光, 王丹丹, 等. 腹主动脉缩窄术后大鼠心室电生理特性及室性心律失常诱发率的变化[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(2):425–428.
- [18] 杨涛, 张伟, 张雷, 等. 大鼠腹主动脉缩窄模型的制备及其效果的探讨[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(1):24–26.
- [19] 张冬颖, 罗羽慧, 覃数, 等. 冠状动脉结扎与腹主动脉缩窄所致慢性心力衰竭大鼠模型比较[J]. 中国微循环, 2005, 9(3):171–174.
- [20] Veith C, Drent M, Bast A, et al. The disturbed redox-balance in pulmonary fibrosis is modulated by the plant flavonoid quercetin[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2016, 336:40–48.
- [21] Kamalia L, Perdhana IS, Melva L, et al. The effects of quercetin on oxidative stress and fibrosis markers in chronic kidney disease rat model[J]. Med J Indonesia, 2017, 26(3):169–177.
- [22] Jing Z, Wang Z, Li X, et al. Protective effect of quercetin on posttraumatic cardiac injury[J]. Sci Rep, 2016, 6:30812.
- [23] Arkat S, Umbarkar P, Singh S, et al. Mitochondrial peroxiredoxin-3 protects against hyperglycemia induced myocardial damage in diabetic cardiomyopathy[J]. Radic Biol Med, 2016, 97(10):489–500.
- [24] Yu L, Li S, Tang X, et al. Diallyl trisulfide ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury by reducing oxidative stress and endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in type 1 diabetic rats:role of SIRT1 activation[J]. Apoptosis, 2017, 22(7):942–954.
- [25] Yu L, Sun Y, Cheng L, et al. Melatonin receptor-mediated protection against myocardial ischemia/reperfusion injury:role of SIRT1[J]. J Pineal Res, 2014, 57(2):228–238.
- [26] Cleutjens JP, Verluyten MJ, Smiths JF, et al. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart[J]. Am J Pathol, 1995, 147(2):325–338.
- [27] Horio Y, Hayashi T, Kuno A, et al. Cellular and molecular effects of sirtuin in health and disease[J]. Clin Sci(Lond), 2011, 121(5):191–203.
- [28] Samuel SM, Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, et al. Akt/FOXO3a/SIRT1 mediated cardioprotection by n-tyrosol against ischemic stress in rat *in vivo* model of myocardial infarction:switching gears toward survival and longevity[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(20):9692–9698.
- [29] Alcendor RR, Gao S, Zhai P, et al. Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart[J]. Circ Res, 2007, 100(10):1512–1521.
- [30] Chen J, Zhou Y, Mueller-Steiner S, et al. SIRT1 protects against microglia-dependent amyloid-beta toxicity through inhibiting NF- κ B signaling[J]. J Biol Chem, 2005, 280(48):40364–40374.
- [31] Hernández-Jiménez M, Hurtado O, Cuarteros MI, et al. Silent information regulator 1 protects the brain against cerebral ischemic damage[J]. Stroke, 2013, 44(8):2333–2337.

(责任编辑:冉明会)