

# 大鼠心肌缺血再灌注早期 PARP-1 的表达及其抑制剂 3-AB 对心肌梗死面积的影响

邹吉丽<sup>1,2</sup>, 尹照萍<sup>3</sup>, 张利群<sup>1,4</sup>, 王永权<sup>1</sup>, 齐国先<sup>1</sup>

(1. 中国医科大学附属第一医院心血管内科, 辽宁省沈阳市 110001; 2. 宽甸县中心医院心血管内科, 辽宁省宽甸县 118200; 3. 辽宁盘锦辽河油田妇婴医院心血管内科, 辽宁省盘锦市 124010; 4. 沈阳医学院人文教研室, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 心肌缺血再灌注; 1 型多聚 ADP 核糖聚合酶; 3-氨基苯甲酰胺; 大鼠

[摘要] **目的** 探讨 1 型多聚 ADP 核糖聚合酶(PARP-1)在大鼠心肌缺血再灌注损伤早期心肌组织中的蛋白表达,观察其抑制剂 3-氨基苯甲酰胺(3-AB)对心肌梗死面积的影响。**方法** 将 164 只大鼠随机分为:(1)手术组:又分 7 个小组,每组 12 只大鼠;(2)假手术组:又分 7 个小组,每组 6 只大鼠;(3)手术干预组( $n=14$ );(4)手术对照组( $n=12$ );(5)假手术干预组( $n=6$ );(6)假手术对照组( $n=6$ )。手术组:结扎冠状动脉左前降支近端 45 min,打开系带,建立心肌缺血再灌注损伤模型,分别于再灌注 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、24 h 各时间点处死大鼠,检测各时间点心肌组织 PARP-1 的表达。假手术组:开胸,在冠状动脉左前降支近端穿线但不结扎,分别于与缺血再灌注组相同各时间点(1 h、1 h 15 min、1 h 45 min、2 h 45 min、4 h 45 min、6 h 45 min、24 h 45 min)相同方法检测心肌组织 PARP-1 的表达。手术干预组:建立缺血再灌注模型,分别于再灌注前 15 min 及再灌注后 45 min 给予 3-AB (20 mg/kg,静脉注射),于再灌注 2 h 处死大鼠,然后检测心肌组织 PARP-1 的表达( $n=8$ ),及心肌梗死面积( $n=6$ )。手术对照组:建立缺血再灌注模型,分别于再灌注前 15 min 及再灌注后 45 min 给予等体积生理盐水静脉注射,用相同方法检测心肌组织 PARP-1 的表达( $n=6$ )及心肌梗死面积( $n=6$ )。**结果** 手术组于再灌注不同时间点(15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、24 h)PARP-1 表达灰度值(分别为  $176 \pm 7$ 、 $180 \pm 8$ 、 $190 \pm 9$ 、 $207 \pm 15$ 、 $198 \pm 13$ 、 $196 \pm 9$ 、 $190 \pm 5$ )与假手术组比较有显著差异( $P < 0.05$ )。手术干预组灰度值( $171 \pm 7$ )与手术对照组灰度值( $205 \pm 17$ )比较有显著差异( $P < 0.05$ )。手术干预组梗死面积( $20\% \pm 2\%$ )与手术对照组( $33\% \pm 4\%$ )比较有显著差异( $P < 0.05$ )。**结论** 心肌缺血再灌注早期心肌组织中 PARP-1 有明显表达,并呈动态变化,再灌注 2 h 最明显。3-AB 明显抑制 PARP-1 表达,减小心肌梗死面积。有效抑制心肌缺血再灌注早期 PARP-1 表达可以减轻再灌注心肌损伤,保护心肌。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## PARP-1 Expression and the Effects of 3-Aminobenzamide on Infarction Area of Rats During Early Stage of Heart Ischemia Reperfusion Injury

ZOU Ji-Li<sup>1,2</sup>, YIN Zhao-Ping<sup>3</sup>, ZHANG Li-Qun<sup>1,4</sup>, WANG Yong-Quan<sup>1</sup>, and QI Guo-Xian<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110001, China; 2. Department of Cardiology, Central Hospital of Kuandian County, Dandong, Liaoning 118200, China; 3. Department of Cardiology, Maternal and Infant Hospital of Liaohe, Panjin, Liaoning 124010, China; 4. Department of Humanity, Shenyang Medical College, Shenyang, Liaoning 110001, China)

[KEY WORDS] Myocardial Ischemia Reperfusion; Poly ADP-ribose Polymerase-1; 3-Aminobenzamide; Rats

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression of poly ADP-ribose polymerase-1 (PARP-1) and to observe the effect of myocardial infarct size after the application of PARP-1 inhibitor 3-aminobenzamid (3-AB) in the early stage of my

[收稿日期] 2012-11-09

[作者简介] 邹吉丽, 硕士, 主任医师, 研究方向为心血管疾病的基础、临床及介入治疗, E-mail 为 zoujili5888@163.com。尹照萍, 主治医师, 研究方向为冠心病的临床治疗, E-mail 为 154789033@qq.com。通讯作者齐国先, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的基础、临床及介入治疗, E-mail 为 qigx2002@medmail.com.cn。

ocardial ischemia reperfusion (IR) in rat. **Methods** Rats ( $n = 164$ ) were randomly divided into 6 groups: operation groups including operation 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h and 24 h group (12 rats in each group), sham groups including sham 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h and 24 h group (6 rats in each group), operation drug group ( $n = 14$ ), operation saline group ( $n = 12$ ), sham drug group ( $n = 6$ ), sham saline group ( $n = 6$ ). The left anterior descending coronary artery (LAD) was ligated for 45 min and reperfused for different time of 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h and 24 h, IR model was set up, then the rats were killed, and the expression of PARP-1 in myocardial tissue was detected. Sham group animals received all the surgical procedures described previously, but the LAD was not tied. Drug of PARP inhibitor 3-AB (20 mg/kg, iv) was given to operation drug group and sham drug group and the equal volume of saline was given to operation saline group and sham saline group at 30 min after thoracotomy and 45 min after reperfusion, then the expression of PARP-1 in myocardial tissue and the infarct size were detected. **Results** The levels of PARP-1 in operation groups were obviously higher than those in sham groups ( $P < 0.05$ ). The level of PARP-1 in operation drug group was obviously lower than that in operation saline group ( $P < 0.05$ ). Infarct size in operation drug group and in operation saline group after reperfusion 2 hour was obviously different ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The content of PARP-1 gradually increased and dynamically changed in the early stage of myocardial ischemia reperfusion. Content of PARP-1 in myocardial after reperfusion for 2 hours had the most obvious expression. Drug of 3-AB obviously inhibited the level of PARP-1, decreased ischemia reperfusion injury and reduced infarct size. Actively using inhibitors of PARP-1 is significantly important in the early stage of myocardial ischemia reperfusion injury.

1 型多聚 ADP 核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase-1, PARP-1) 是一种除酵母外存在于所有真核细胞核内的蛋白酶, 细胞内的含量仅次于组蛋白。PARP-1 对维持细胞染色体稳定、DNA 修复和复制、细胞凋亡和死亡及基因转录及维持细胞生命起着重要作用<sup>[1,2]</sup>。在心肌缺血再灌注 (ischemia reperfusion, IR)、循环休克和系统炎症等各种类型组织损伤时 PARP-1 明显表达。PARP-1 过度激活可以介导一系列反应, 进一步导致细胞坏死和 (或) 凋亡, 其在细胞死亡的分子机制链条中处于下游位置, 是各种损伤导致细胞死亡的最终共同路径<sup>[3]</sup>。心肌缺血再灌注损伤会使心肌细胞和内皮细胞产生大量活性氧和氮簇, 这些物质诱导的氧化 DNA 损伤将激活 PARP-1。本研究应用缺血再灌注模型, 观察缺血再灌注早期心肌中 PARP-1 的表达及动态变化, 及 PARP-1 抑制剂 3-氨基苯甲酰胺 (3-aminobenzamide, 3-AB) 对心肌梗死面积的影响, 并探讨其在大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

雄性 Wistar 大鼠 260 ~ 300 g, 由中国医科大学动物实验中心提供。分笼饲养于恒温 ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ )、恒湿 (50% ~ 60%)、无特殊病原体条件下, 饮用水和标准饲料均经灭菌后供动物自由取用。

### 1.2 主要试剂、仪器

PARP-1 单克隆抗体 (购自美国 ALX 公司),

SABC 免疫试剂盒、DAB 显色剂 (武汉博士德公司)。心电图机 (上海光电仪器有限公司), 动物人工呼吸机 (上海嘉鹏科技有限公司), 石蜡切片机 (德国 Leica 公司), 高速冰冻离心机 (美国 Sigma 公司), 光学显微镜 (日本 Olympus 公司), 低温冰箱 (日本 Sanyo 公司)。

### 1.3 实验分组

(1) 手术组: 又分 7 个小组 (每个时间点为 1 个小组), 每组 12 只大鼠; 结扎冠状动脉左前降支 (ALD) 近端 45 min, 打开系带, 建立心肌缺血再灌注损伤模型, 分别于再灌注 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、24 h 各时间点处死大鼠 (12 只), 检测各时间点心肌组织 PARP-1 的表达。(2) 假手术组: 又分 7 个小组 (每个时间点为 1 个小组), 每组 6 只大鼠; 开胸, 在冠状动脉左前降支近端穿线但不结扎, 分别于与缺血再灌注组相同各时间点 (1 h、1 h 15 min、1 h 45 min、2 h 45 min、4 h 45 min、6 h 45 min、24 h 45 min) 相同方法检测心肌组织 PARP-1 的表达。(3) 手术干预组 ( $n = 14$ ): 建立缺血再灌注模型, 分别于再灌注前 15 min 及再灌注后 45 min 给予 3-AB (20 mg/kg, 静脉注射), 于再灌注 2 h 处死大鼠, 然后检测心肌组织 PARP-1 的表达 ( $n = 8$ ), 及心肌梗死面积 ( $n = 6$ )。(4) 手术对照组 ( $n = 12$ ): 建立缺血再灌注模型, 分别于再灌注前 15 min 及再灌注后 45 min 给予等体积生理盐水静脉注射, 相同方法检测心肌组织 PARP-1 的表达 ( $n = 6$ ) 及心肌梗死面积 ( $n = 6$ )。(5) 假手术干预组 ( $n = 6$ ): 建立假手术模型, 分别于与手术干预组相同各时间点在冠状

动脉左前降支近端穿线但不结扎,30 min 及 90 min 给予 3-AB(20 mg/kg, 静脉注射),于 2 h 45 min 处死大鼠,检测心肌组织 PARP-1 的表达。(6)假手术对照组( $n=6$ ):建立假手术模型,分别于与手术干预组相同各时间点冠状动脉左前降支近端穿线但不结扎,30 min 及 90 min 给予等体积生理盐水静脉注射,相同方法检测心肌组织 PARP-1 的表达。

#### 1.4 大鼠心肌缺血再灌注损伤模型制备

大鼠用 10% 水合氯醛(4 mL/kg, 腹腔注射)麻醉,取仰卧位固定,备皮,行气管切开,气管插管,小动物呼吸机辅助呼吸,潮气量 2~3 mL,吸呼比 1:

1.5,呼吸频率 75 次/分。于左前胸第 3、4 肋间开胸,撕开心包,暴露心脏及左心耳,以 5/0 线在距冠状动脉左前降支根部 1~2 mm 系一个拌,其间穿过一塑料管,拉紧拌,观察心电图变化,ST 段抬高为结扎成功,结扎线以下心肌组织颜色变暗。45 min 后拔出塑料管,使冠状动脉血流再通,再灌注时局部组织充血。分别于再灌注 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、24 h,检测各时间点心肌中 PARP-1 的表达。假手术组在心脏同样部位穿线但不结扎左前降支。

#### 1.5 多媒体彩色病理图像分析系统测量心肌梗死范围

使用氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)-伊文氏蓝(TTC-Evans)双染色法测定心肌梗死范围。再灌注结束时,再次原位结扎冠状动脉,从左心室(left ventricle, LV)腔注入 2% 伊文氏蓝 3 mL。心脏随即用水洗涤,剪去右心室和心房,于 -20℃ 冻存 20 min 后,切厚度为 2 mm 的横断面切片 4~5 个,置于 37℃ 下 1% 的 TTC 溶液中孵育 20 min,染色后将心脏切片以 10% 甲醛溶液固定 6 h。用多媒体彩色病理图像分析系统测量心肌梗死面积,计算心肌梗死区占心室面积百分比。

#### 1.6 免疫组织化学染色检测心肌组织 PARP-1

取材后将心肌置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h。梯度酒精脱水、透明、石蜡包埋,行冠状切片,片厚约 5  $\mu$ m。用 SABC 法免疫染色。柠檬酸暴露抗原后,进行 5% 正常血清封闭,滴加抗大鼠 PARP-1 抗体(1:100),4℃ 孵育过夜。生物素标记的二抗(博士得公司)37℃ 孵育 30 min。DAB 显色后,轻度复染,封片。PARP-1 免疫染色评分直接计算平均光密度值。

#### 1.7 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组之间的比较采用  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PARP-1 在心肌中表达

手术组于再灌注不同时间点 PARP-1 表达灰度值与假手术组比较有显著差异( $P < 0.05$ ; 表 1)。

表 1. 不同时间点大鼠心肌免疫组织化学染色结果 PARP-1 表达的平均灰度值比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1. Average gray value of PARP-1 expression in different time points of immunohistochemical myocardial in rats( $\bar{x} \pm s$ )

时间点	手术组( $n=12$ )	假手术组( $n=6$ )
15 min	176 $\pm$ 7 <sup>a</sup>	153 $\pm$ 3
30 min	180 $\pm$ 8 <sup>a</sup>	152 $\pm$ 4
1 h	190 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	157 $\pm$ 4
2 h	207 $\pm$ 15 <sup>a</sup>	157 $\pm$ 8
4 h	198 $\pm$ 13 <sup>a</sup>	160 $\pm$ 6
6 h	196 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	156 $\pm$ 9
24 h	190 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	161 $\pm$ 5

a 为  $P < 0.05$ , 与假手术组比较。

### 2.2 3-AB 抑制 PARP-1 表达

给予 3-AB(20 mg/kg) 两次静脉注射后,PARP-1 表达明显下降,手术干预组与手术对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ ),手术干预组与假手术干预组比较也有显著差异( $P < 0.05$ )(表 2)。

表 2. 3-AB 抑制大鼠心肌 PARP-1 表达的平均灰度值比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2. Average gray value of myocardial PARP-1 expression inhibited by 3-AB in rats ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	PARP-1
手术对照组( $n=6$ )	204.53 $\pm$ 16.58
手术干预组( $n=8$ )	170.83 $\pm$ 6.75 <sup>ab</sup>
假手术对照组( $n=6$ )	158.21 $\pm$ 11.64
假手术干预组( $n=6$ )	154.26 $\pm$ 4.47

a 为  $P < 0.05$ , 与手术对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与假手术干预组比较。

### 2.3 大鼠心肌 HE 染色

石蜡切片 HE 染色,光学显微镜下观察显示:假手术干预组:心肌呈红褐色,无明显细胞坏死(图 1A);手术对照组:坏死心肌呈黄褐色,周围是红色的充血区,心肌纤维的横纹丢失、断裂,心肌细胞核固缩、模糊甚至消失,间质水肿(图 1B);手术干预组:心肌纤维的横纹丢失、断裂及心肌细胞核固缩、

模糊、间质水肿等比手术对照组明显减轻(图 1C)。

## 2.4 大鼠心肌免疫组织化学染色

光学显微镜下观察大鼠心肌免疫组织化学染

色结果,假手术干预组:细胞核无明显染色;手术对照组:细胞核深染,PARP-1 表达明显;手术干预组:细胞核轻度染色(图 2)。

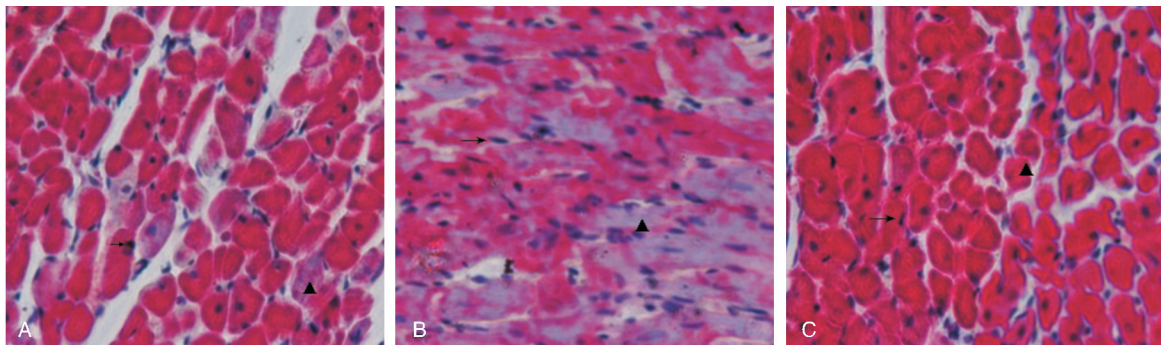


图 1. 大鼠心肌 HE 染色 ( $\times 400$ ) A 为假手术干预组, B 为手术对照组, C 为手术干预组。

Figure 1. Myocardial HE staining of rats ( $\times 400$ )

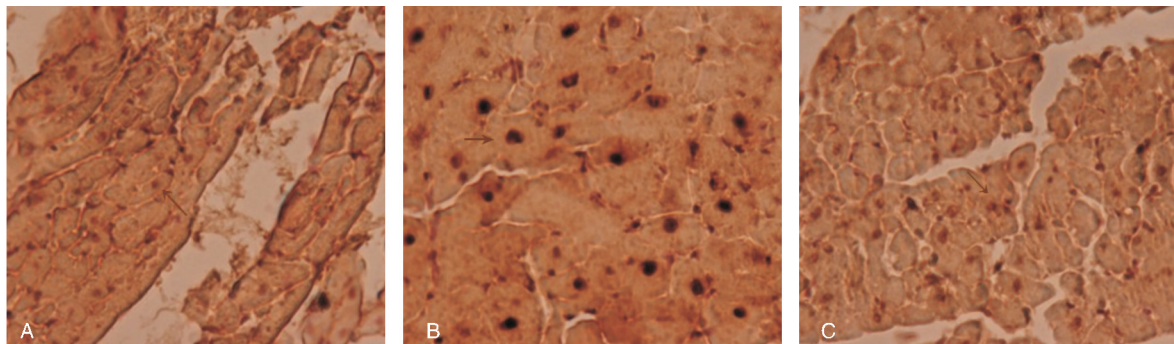


图 2. 大鼠心肌免疫组织化学染色 (DAB 显色,  $\times 400$ ) A 为假手术干预组, B 为手术对照组, C 为手术干预组。

Figure 2. Myocardial immunohistochemistry staining of rats (DAB coloration,  $\times 400$ )

## 2.5 大鼠心肌梗死面积

大鼠心肌经 TTC-Evans 染色后观察,手术干预组心肌梗死面积为  $20.0\% \pm 2.1\%$ ,手术对照组心肌梗死面积为  $33.0\% \pm 4.0\%$ ,两组比较有显著差异 ( $P < 0.05$ )。未染色的白色区域即为梗死心肌(图 3)。

## 3 讨论

PARP-1 是一种蛋白酶,为由 1 014 个氨基酸残基组成的一条多肽链,分子量为 113 ~ 116 kDa,等电点在 8.0 ~ 9.8 之间,它是 PARP 家族中发现最早、而且特性了解最清楚的成员。PARP 是一类蛋白质翻译后修饰酶,高浓度存在于真核细胞核内,少量存在细胞浆内。PARP-1 是 PARP 家族的主要成员,肽链结构域中有 3 个功能区:(1)DNA 结构域

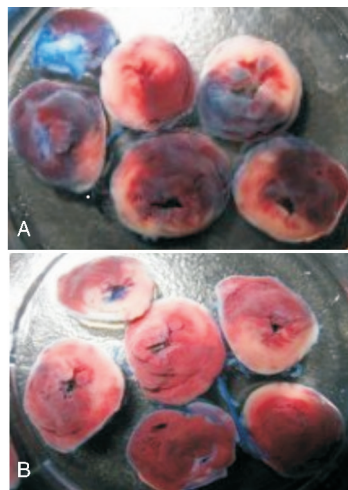


图 3. 大鼠心肌 TTC-Evans 染色后观测梗死面积 A 为手术对照组, B 为手术干预组。

Figure 3. The observation of myocardial infarct area after TTC-Evans staining in rats

(DNA binding domain, DBD), 46 kDa, 位于 N-末端第 1~372 氨基酸残基之间, 包含 2 个碱性部分、2 个锌指 (Zn finger) 结构和 1 个核定位序列 (nuclear localization sequence, NLS), 2 个锌指结构参与识别 DNA 缺口, 第 1 个锌指结构可以识别 DNA 单链和双链断裂, 突变会降低 PARP 活化, 第 2 个锌指结构只参与识别 DNA 单链断裂<sup>[4]</sup>; (2) 自我修饰结构域 (automodification domain), 22 kDa, 位于第 374~525 氨基酸残基之间, 通过该结构域 PARP-1 可与 ADP 糖基结合, PARP 自身糖基化, 该结构域还可以使 PARP 形成二聚体; (3) 催化结构域 (catalytic domain), 54 kDa, 位于 C-末端第 524~1 014 氨基酸残基之间, 是把 NAD<sup>+</sup> 转化为 ADP 核糖的基础, 此序列保持高度保守性<sup>[5]</sup>。

PARP-1 能催化多聚 ADP 核糖化反应; PARP-1 将 NAD<sup>+</sup> 中的 ADP 核糖转移到受体蛋白上形成多聚 ADP 核糖链, 以改变受体蛋白的生物学活性, 影响其生物学效应的发挥<sup>[5]</sup>。目前有关 PARP-1 研究主要集中在以下方面<sup>[1]</sup>: (1) PARP-1 涉及 DNA 修复和遗传基因完整性的维持; (2) PARP-1 在转录水平调节各种蛋白的表达, 包括前炎症因子如诱导型一氧化氮合酶、细胞间粘附分子和主要组织相容性复合物 II 的表达; (3) PARP-1 活化代表一种细胞终结途径, 通过此途径严重受损的细胞从组织中被移除; (4) PARP-1 参与调节复制和分化。除了它的生理功能, 目前认为 PARP-1 活化作为不同的病理生理条件及疾病状态中一条关键通路, PARP-1 在 DNA 损伤诱导的细胞死亡中起复杂的作用。在生理情况下, 因外界因素可导致细胞少量 DNA 断裂, PARP 被激活, 发挥迅速修复 DNA 的作用, 这一过程需消耗 ATP。在病理情况下, 如心肌缺血再灌注时可产生大量自由基和氧化剂并持续存在, 这将导致大量 DNA 损伤和 PARP 表达, PARP 被持续激活, 大量消耗 NAD, 可耗竭 ATP; 没有足够能量提供让细胞来修复 DNA, 最终导致细胞死亡, 疾病恶化, 进一步激活 PARP, 形成恶性循环。目前有大量证据表明 PARP 在心肌细胞缺血再灌注损伤发展过程中起重要作用<sup>[6]</sup>。另有研究表明, 心肌组织缺血再灌注时 PARP 明显表达, 而 PARP 活化则主要发生在再灌注阶段<sup>[7-9]</sup>。

PARP-1 可与多种调节炎症细胞因子转录的转录因子之间产生相互作用, 调控多种细胞因子表达<sup>[10]</sup>。心肌再灌注损伤的两个主要病理机制是氧化应激和早期炎症反应<sup>[11, 12]</sup>。在再灌注过程中, 产生大量氧自由基和活性氧, 可直接损伤心肌细胞,

造成细胞结构损伤与功能障碍, 甚至死亡<sup>[13]</sup>。心肌梗死后在 PARP-1 调控下, 多种炎症细胞因子表达水平明显增高, 可导致病人心脏功能减退。研究发现, PARP-1 基因敲除 (PARP-1<sup>-/-</sup>) 鼠体内, 在外源性肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 的刺激下, 该种小鼠心脏内皮细胞中受 TNF- $\alpha$  影响的炎症细胞因子蛋白表达及多种细胞因子水平明显异于野生型鼠 (PARP-1<sup>+/+</sup>), TNF- $\alpha$  蛋白的表达明显受到抑制。另有报道指出, 环氧合酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 和主要组织相容性复合物 II 可减少缺血再灌注、循环休克和活化吞噬细胞的组织浸润<sup>[14]</sup>。PARP-1 基因敲除 (PARP-1<sup>-/-</sup>) 鼠心脏内皮细胞内多种受核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 调控的基因的转录及表达水平也出现不同的变化<sup>[15]</sup>。证明 PARP-1 不但参与了 TNF- $\alpha$  基因表达的调控, 而且还参与了 TNF- $\alpha$  促进和调控多种炎症细胞因子表达的过程; PARP-1 成为 NF- $\kappa$ B 的“合作者”, 参与调控多种基因的表达。研究表明 PARP-1 作为 NF- $\kappa$ B 介导转录的“合作者”, 是调节这些蛋白的关键转录因子<sup>[16]</sup>。PARP-1 能抑制肿瘤坏死因子、细胞间黏附分子等炎症因子的转录, 从而减轻炎症细胞因子对内皮细胞的损害<sup>[17]</sup>。在各种心血管疾病急性事件 (如心肌梗死、冠状动脉旁路术、主动脉再造术、脓毒性休克等) 和慢性炎症 (如动脉粥样硬化、心血管老化) 的病理过程中, PARP-1 抑制剂能降低相关基因的表达<sup>[18]</sup>。在各种心血管病中, 脂质过氧化、蛋白硝化和氧化、DNA 氧化损伤、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP) 活化和一系列酶的失活介导产生活性氧和活性氮簇 (例如过氧亚硝酸盐) 依赖的细胞毒性作用。过氧亚硝酸盐<sup>[19]</sup> 会加重 DNA 的氧化损伤, 直接导致 DNA 链的断裂活化核酶 PARP。活性氧和自由基, 包括低氧-复氧, 细胞内糖浓度增高, Ca<sup>2+</sup> 和血管紧张素 II, 被称为 PARP-1 的内源性激活物<sup>[20, 21]</sup>。抑制 PARP-1 内源性激活物可延缓心肌重构和心衰进程<sup>[22]</sup>。

综上所述, PARP-1 作为一种功能复杂的核蛋白酶, 不但参与了维持细胞及染色体的稳定, 还参与 DNA 的复制和修复、细胞凋亡和死亡等多种病理生理反应。还可以通过与多种调节炎症细胞因子转录的转录因子相互作用, 调控多种细胞因子的表达, 发挥酶催化活性和转录调节双重作用。本实验表明在心肌缺血再灌注损伤早期, PARP-1 明显表达并呈动态变化; 给予 PARP-1 抑制剂, 可减轻再灌注给心肌带来的损伤, 减小心肌梗死面积, 对心肌再

灌注早期起保护作用。积极有效的应用 PARP-1 抑制剂有重要意义,但其具体作用机制及药物应用方法还需要进一步的研究和探讨。

#### [参考文献]

- [1] Hassa PO, Hottiger MO. The diverse biological roles of mammalian PARPs, a small but powerful family of poly-ADP-ribose polymerases[J]. *Front Biosci*, 2008, 1(13): 3 046-082.
- [2] Cuzzocrea S, Rossi A, Serraino I, et al. 5-lipoxygenase knockout mice exhibit a resistance to splanchnic artery occlusion shock[J]. *Shock*, 2003, 20(3): 230-236.
- [3] Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation[J]. *Am J Physiol*, 1986, 250(6 Pt 1): G749-753.
- [4] Petrucco S. Sensing DNA damage by PARP-like fingers [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(23): 6 689-699.
- [5] Virag L, Szabo C. The therapeutic potential of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors[J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54(3): 375-429.
- [6] Zhang LQ, Qi GX, Zou JL, et al. Increased poly (ADP-ribosyl) ation in peripheral leukocytes and the reperfused myocardium tissue of rats with ischemia/reperfusion injury: prevention by 3-aminobenzamide treatment [J]. *Shock*, 2012, 37(5): 492-500.
- [7] Li XY, Xu L, Lin GS, et al. Protective effect of caffeine administration on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Shock*, 2011, 36(3): 289-294.
- [8] Megnin-Chanet F, Bollet MA, Hall J. Targeting poly (ADP-ribose) polymerase activity for cancer therapy[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(21): 3 649-662.
- [9] Roesner JP, Mersmann J, Bergt S, et al. Therapeutic injection of PARP inhibitor INO-1001 preserves cardiac function in porcine myocardial ischemia and reperfusion without reducing infarct size[J]. *Shock*, 2010, 33(5): 507-512.
- [10] Nakajima H, Nagaso H, Kakui N, et al. Critical role of the automodification of poly (ADP-ribose) polymerase-1 in nuclear factor- $\kappa$ B-dependent gene expression in primary cultured mouse glial cells[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(41): 42 774-786.
- [11] Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, Piper HM. Lethal reperfusion injury in acute myocardial infarction: facts and unresolved issues [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(2): 165-168.
- [12] Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(11): 1 121-135.
- [13] 吕磊, 孟庆欣, 徐军, 等. 川芎嗪减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤炎症反应及机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(6): 514-518.
- [14] Szabo C. Poly (ADP-ribose) polymerase activation by reactive nitrogen species: relevance for the pathogenesis of inflammation[J]. *Nitric Oxide*, 2006, 14(2): 169-179.
- [15] Carrillo A, Monreal Y, Ramirez P, et al. Transcription regulation of TNF-alpha-early response genes by poly (ADP-ribose) polymerase-1 in murine heart endothelial cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(2): 757-766.
- [16] Aguilar-Quesada R, Munoz-Gamez JA, Martin-Oliva D, et al. Modulation of transcription by PARP-1: consequences in carcinogenesis and inflammation [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14(11): 1 179-187.
- [17] 薛永亮, 唐宁, 华晓东, 等. 一氧化氮与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(8): 698-701.
- [18] Pacher P, Szabo C. Role of poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in cardiovascular diseases; the therapeutic potential of PARP inhibitors [J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2007, 25(3): 235-260.
- [19] Pache P, Szabo C. Role of the peroxynitrite poly (ADP-ribose) polymerase pathway in human disease[J]. *Am J Pathol*, 2008, 173(1): 2-13.
- [20] Pillai JB, Gupta M, Rajamohan SB, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase-1-deficient mice are protected from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291(4): H1 545-553.
- [21] Huang D, Wang Y, Yang C, et al. Angiotensin II promotes poly (ADP-ribosyl) ation of c-Jun/c-Fos in cardiac fibroblasts [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(1): 25-32.
- [22] Bartha E, Solti I, Kereskai L, et al. PARP inhibition delays transition of hypertensive cardiopathy to heart failure in spontaneously hypertensive rats [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(3): 501-510.

(此文编辑 曾学清)