

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research

槲皮素在急性骨骼肌损伤中促进肌肉再生的研究

Research of quercetin promote muscle regeneration in acute skeletal muscle injury

袁玉鹏^{1,2}, 江 亚³

(1. 合肥师范学院 体育科学学院, 安徽 合肥 230601; 2. 安徽省运动健康信息监测技术工程研究中心, 安徽 合肥 230601; 3. 安徽医科大学 第三临床学院, 合肥市第三人民医院 关节外科, 安徽 合肥 230041)

YUAN Yu-peng^{1,2}, JIANG Ya³

(1. School of Physical Education Science, Hefei Normal University, Hefei 230601, Anhui Province, China; 2. Anhui Engineering Laboratory for Sports Health Information Monitoring Technology, Hefei 230601, Anhui Province, China; 3. Department of Joint Surgery, the Third Clinical College of Anhui Medical University, The Third People's Hospital of Hefei, Hefei 230041, Anhui Province, China)

基金项目: 安徽省高校优秀人才培养基金资助项目(gxgwf2020012); 安徽省高校哲学社会科学研究基金资助项目(2023AH051265)

作者简介: 袁玉鹏(1984-), 男, 副教授, 主要从事运动医学、体育教学与训练方面的相关研究

通信作者: 江亚, 副主任医师

MP: 13855142053

E-mail: 2552624944@qq.com

摘要:目的 探讨槲皮素在急性骨骼肌损伤中促进肌肉再生的作用机制。方法

将卫星细胞随机分为空白组(常规培养)、过氧化氢(H_2O_2)组($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 处理细胞 24 h)、槲皮素组($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理细胞 24 h)和 H_2O_2 + 槲皮素组($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理细胞 24 h)。用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)法检测细胞增殖率,用蛋白质印迹法检测相关蛋白表达情况,用试剂盒检测线粒体活性氧(ROS)水平及线粒体呼吸相关指标。**结果** 空白组、槲皮素组、 H_2O_2 组和 H_2O_2 + 槲皮素组的细胞 24 h 增殖率分别为(100.00 ± 4.27)%、(148.79 ± 13.17)%、(81.70 ± 3.19)%和(120.83 ± 8.81)%,超氧化物歧化酶 1(SOD1)蛋白相对表达水平分别为 0.64 ± 0.09 、 0.76 ± 0.09 、 0.24 ± 0.03 和 0.43 ± 0.06 ,肌球蛋白重链(MyHC)蛋白相对表达水平分别为 0.61 ± 0.05 、 0.67 ± 0.06 、 0.32 ± 0.03 和 0.47 ± 0.06 ,线粒体 ROS 荧光强度分别为(52.56 ± 1.97)、(48.46 ± 4.05)、(119.53 ± 13.06)和(102.91 ± 8.93) a.u.,过氧化氢酶(CAT)水平分别为(28.66 ± 2.18)、(35.62 ± 3.89)、(18.13 ± 1.78)和(23.97 ± 2.72) $\mu\text{mol} \cdot \text{mg protein}^{-1}$,线粒体呼吸链(MRC) complex I 水平分别为(19.77 ± 1.01)、(23.28 ± 2.48)、(9.87 ± 1.01)和(14.19 ± 0.75) $\mu\text{mol} \cdot \text{mg protein}^{-1}$ 。槲皮素组和 H_2O_2 组的上述指标与空白组比较, H_2O_2 + 槲皮素组上述指标与 H_2O_2 组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。**结论** 槲皮素可通过清除线粒体 ROS 水平,改善氧化损伤,促进卫星细胞增殖,进而可在急性骨骼肌损伤中促进肌肉再生。

关键词: 槲皮素; 急性骨骼肌损伤; 肌肉再生; 卫星细胞; 氧化损伤; 线粒体

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.06.010

中图分类号: R28

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)06-0800-05

Abstract: Objective To investigate the mechanism of quercetin in promoting muscle regeneration in acute skeletal muscle injury. **Methods**

Satellite cells were randomly divided into blank group (conventional culture), hydrogen peroxide (H_2O_2) group ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 treated cells for 24 h), quercetin group ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ quercetin treated cells for 24 h), H_2O_2 + quercetin group ($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 + $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ quercetin treated cells for 24 h). Cell proliferation was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) method; protein expression was detected by Western blot assay; mitochondrial reactive oxygen species (ROS) levels and related indicators of mitochondrial respiration were detected by kit. **Results** The 24 h proliferation rates of cells in blank group, quercetin group, H_2O_2 group and H_2O_2 + quercetin group

were $(100.00 \pm 4.27)\%$, $(148.79 \pm 13.17)\%$, $(81.70 \pm 3.19)\%$ and $(120.83 \pm 8.81)\%$, respectively; the relative expression levels of superoxide dismutase 1 (SOD1) protein were 0.64 ± 0.09 , 0.76 ± 0.09 , 0.24 ± 0.03 and 0.43 ± 0.06 , respectively; the relative expression levels of myosin heavy chain (MyHC) protein were 0.61 ± 0.05 , 0.67 ± 0.06 , 0.32 ± 0.03 and 0.47 ± 0.06 , respectively; the fluorescence intensities of mitochondrial ROS were (52.56 ± 1.97) , (48.46 ± 4.05) , (119.53 ± 13.06) and (102.91 ± 8.93) a. u., respectively; the catalase (CAT) levels were (28.66 ± 2.18) , (35.62 ± 3.89) , (18.13 ± 1.78) and (23.97 ± 2.72) $\mu\text{mol} \cdot \text{mg protein}^{-1}$, respectively; mitochondrial respiratory chain (MRC) complex I levels were (19.77 ± 1.01) , (23.28 ± 2.48) , (9.87 ± 1.01) and (14.19 ± 0.75) $\mu\text{mol} \cdot \text{mg protein}^{-1}$, respectively. The above indexes in quercetin group and H_2O_2 group were compared with blank group, the above indexes in H_2O_2 + quercetin group were compared with H_2O_2 group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$).

Conclusion Quercetin can promote mitochondrial respiration by clearing mitochondrial ROS levels, improve oxidative damage, and then promote satellite cell proliferation, which can promote muscle regeneration in acute skeletal muscle injury.

Key words: quercetin; acute skeletal muscle injury; muscle regeneration; satellite cells; oxidative damage; mitochondria

急性骨骼肌损伤在身体运动创伤中十分常见,是导致残疾的重要原因之一。骨骼肌损伤除了对肌肉细胞造成机械损伤外,还涉及细胞因子和炎症细胞直接进入损伤部位,诱发线粒体功能障碍,表现为活性氧(reactive oxygen species, ROS)超载等^[1-2]。槲皮素是一种存在于多种果蔬中的黄酮类化合物,具有显著的抗炎、抗氧化功效^[3],其可以通过调控线粒体功能障碍在多种疾病中发挥治疗作用^[4]。本研究旨在通过体外实验,探究槲皮素对急性骨骼肌损伤肌肉再生的作用及其作用机制。

材料与方法

1 材料

细胞 大鼠原代骨骼肌卫星细胞,购自美国菌种保藏中心。

药物与试剂 槲皮素,纯度:98%,规格:每支20 mg,批号:240415,购自成都普思生物科技股份有限公司;多聚赖氨酸(poly-L-lysine, PLL),纯度:>98%,规格:每瓶25 mg,批号:20240322,购自武汉科斯坦生物科技有限公司;过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2),纯度:100%,规格:每瓶2 mL,批号:20240310,购自广东环凯微生物科技有限公司;改良培养基(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)培养基,购自上海嘉楚生物工程有限公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8),购自西安百萤生物科技有限公司;Calcein-AM/PI活细胞/死细胞双染试剂盒、Trizol试剂、逆转录试剂盒、放射免疫

沉淀分析(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解液,均购自北京索莱宝科技有限公司;肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MyHC)、成肌细胞决定基因(myoblasts determine genes, Myod)一抗,均购自美国Developmental Studies Hybridoma Bank公司;超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1, SOD1)、沉默信息调节因子1(silent information regulation 1, SIRT1)、磷酸甘油醛脱氢酶(reduced glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase, GAPDH)一抗及二抗,均购自美国Abcam公司;增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL),购自上海创赛科技有限公司;线粒体超氧化物检测试剂盒(MitoSOX Red),购自上海碧云天生物公司;过氧化氢酶(catalase, CAT)、腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)、线粒体呼吸链(mitochondrial respiratory chain, MRC) complex I、MRC complex III检测试剂盒,均购自南京建成工程研究所。引物,由上海碧云天生物公司设计和合成。

仪器 Tecan Spark 酶标仪,瑞士 Tecan 公司产品;LightCycler® 480 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)仪,瑞士 Roche 公司产品;CKX53 荧光显微镜,日本奥林巴斯公司产品。

2 实验方法

2.1 卫星细胞的培养^[5]

原代骨骼肌卫星细胞培养在 DMEM 培养基中,含有 15% 胎牛血清、 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青霉素、 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 链霉素、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ PLL,培养温度为 37°C , CO_2 为 5%,湿度为 95%,取第 3~4

代细胞用于后续实验。

2.2 细胞分组与处置方法

将卫星细胞随机分为空白组、 H_2O_2 组、槲皮素组、 H_2O_2 + 槲皮素组。空白组细胞常规培养,不做处理, H_2O_2 组细胞用 $100\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 处理细胞 24 h,槲皮素组细胞用 $10\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理细胞 24 h, H_2O_2 + 槲皮素组细胞用 $100\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 及 $10\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理细胞 24 h。

2.3 CCK-8 法检测细胞增殖情况^[6]

收集卫星细胞,胰酶消化后,制备细胞悬液并接种 96 孔板中,用浓度为 0、5、10、20、40、80、160 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理细胞 24 h,并另取一批细胞,将细胞根据“2.2”中描述的分组处理后弃原培养基,并于 24 h 每孔加入 CCK-8 试剂 10 μL 培养箱中染色 2 h,然后用酶标仪测定光密度(optical density, OD)值,并根据 OD 值计算细胞增殖率。

2.4 Calcein-AM/PI 双染法检测活细胞/死细胞比值^[7]

细胞按“2.2”分组处理后,胰蛋白酶消化,离心后收集细胞,清洗细胞后,将细胞与 1 倍的实验缓冲液混合均匀,然后每孔加入 $2\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Calcein-AM 和 $4.5\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PI 试剂各 100 μL ,并在培养箱中染色 0.5 h,然后立即用荧光显微镜观察,并且 Image J 软件评估平均荧光强度。

2.5 RT-qPCR 实验检测相关 mRNA 的表达情况^[7]

用 Trizol 试剂从细胞中提取总 RNA,用逆转录试剂盒将总 RNA 1 μg 逆转录为 cDNA,然后配制反应体系,用 RT-qPCR 检测 *MyHC*、*Myod*、*SOD1*、*SIRT1* mRNA 的相对表达水平,以 *GAPDH* 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析基因表达情况。

2.6 蛋白质印迹法检测相关蛋白的表达情况^[7]

收集各组细胞,用 RIPA 缓冲液裂解细胞,然后在 $4\ ^\circ\text{C}$ 下,以 $1.2 \times 10^4\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,获得上清液(总蛋白),定量后取等量的蛋白裂解物进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,并转至聚偏二氟乙烯膜上,膜在 5% 脱脂牛奶中室温封闭 1 h,然后与抗 *MyHC*、*Myod*、*SOD1*、*SIRT1* 一抗孵育过夜($4\ ^\circ\text{C}$, 稀释比均为 1:1 000),次日二抗(1:5 000)孵育 1 h,清洗后 ECL 发光液显色、曝光、分析灰度值。

2.7 试剂盒检测线粒体 ROS 水平^[8]

收集各组细胞,根据试剂盒说明书将 MitoSoX Red 线粒体超氧化物指示剂进行稀释,加入探针工作液完全覆盖细胞,在 $37\ ^\circ\text{C}$ 下孵育 15 min,用 Hoechst

进行复染 5 min,在荧光显微镜下观察。

2.8 试剂盒法检测 CAT、ATP、MRC complex I 和 MRC complex III 活性^[9]

收集细胞,根据“2.2”中分组处理后,离心收集上清液,然后严格根据试剂盒操作步骤进行检测,并根据标准曲线计算相关酶活性。

3 统计学处理

用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差法进行分析,组间两两比较用独立样本 *t* 检验法进行分析。

结 果

1 槲皮素对卫星细胞增殖的影响

用 0、5、10、20、40、80、160 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理细胞 24 h,细胞存活率分别为 $(100.00 \pm 0.00)\%$ 、 $(100.90 \pm 2.89)\%$ 、 $(111.66 \pm 7.49)\%$ 、 $(126.70 \pm 11.23)\%$ 、 $(103.77 \pm 10.98)\%$ 、 $(88.36 \pm 4.32)\%$ 和 $(75.37 \pm 5.82)\%$ 。与 $0\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理组比较,10、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理组细胞存活率均显著升高(均 $P < 0.01$),80、160 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理组细胞存活率均显著降低(均 $P < 0.01$),5、40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的槲皮素处理组细胞存活率无明显变化(均 $P > 0.05$)。因 10、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度槲皮素可以显著促进细胞增殖,而 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上的浓度则显著抑制细胞增殖,故选择 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 槲皮素进行后续实验。

2 槲皮素保护卫星细胞免受 H_2O_2 引起的损伤

空白组给予常规培养; H_2O_2 组给予 $100\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 ;槲皮素组给予 $10\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 槲皮素; H_2O_2 + 槲皮素组给予 $100\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 + $10\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 槲皮素。

槲皮素组与空白组比较,细胞增殖率显著升高($P < 0.001$); H_2O_2 组与空白组比较,增殖率显著下降($P < 0.001$); H_2O_2 + 槲皮素组与 H_2O_2 组比较,细胞增殖率显著升高,活细胞/死细胞比值显著降低(均 $P < 0.001$),见表 1。

3 槲皮素促进卫星细胞的成肌分化

槲皮素组与空白组比较,MyHC、Myod 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著升高($P < 0.05$, $P < 0.001$); H_2O_2 组与空白组比较,MyHC、Myod 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著下降(均 $P < 0.001$); H_2O_2 + 槲皮素组与 H_2O_2 组比较,MyHC、Myod 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著升高($P < 0.01$,

表 1 各组细胞增殖率及死细胞/活细胞比值的比较($\bar{x} \pm s$)**Table 1** Comparison of light absorption value and ratio of dead cells/live cells in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Proliferation rate(%)	Live cell/dead cells(%)
Blank	9	100.00 ± 4.27	0.00 ± 0.00
Quercetin	9	148.79 ± 13.17***	0.00 ± 0.00
H ₂ O ₂	9	81.70 ± 3.19***	2.10 ± 0.17
H ₂ O ₂ + quercetin	9	120.83 ± 8.81###	0.47 ± 0.06###

Compared with blank group, *** $P < 0.001$; Compared with H₂O₂ group, ### $P < 0.001$; Blank group: Conventional culture; Quercetin group: 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ quercetin treated; H₂O₂ group: 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H₂O₂ treated; H₂O₂ + quercetin group: 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H₂O₂ + 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ quercetin conventional treated.

$P < 0.001$), 见表 2。

4 槲皮素促进卫星细胞氧化应激下线粒体的 ROS 清除能力

槲皮素组与空白组比较, 细胞线粒体 ROS 荧光强度显著降低 ($P < 0.05$), SOD1、SIRT1 蛋白和 mRNA

相对表达水平均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$); H₂O₂ 组与空白组比较, 细胞线粒体 ROS 荧光强度显著升高, SOD1、SIRT1 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著下降 (均 $P < 0.001$); H₂O₂ + 槲皮素组与 H₂O₂ 组比较, 细胞线粒体 ROS 荧光强度显著降低 ($P < 0.01$), SOD1、SIRT1 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.001$), 见表 3。

5 槲皮素增强卫星细胞 H₂O₂ 刺激后的线粒体动力学

槲皮素组与空白组比较, 细胞中 CAT、ATP、MRC complex I、MRC complex III 水平均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); H₂O₂ 组与空白组比较, CAT、ATP、MRC complex I、MRC complex III 水平均显著下降 ($P < 0.01$, $P < 0.001$); H₂O₂ + 槲皮素组与 H₂O₂ 组比较, 细胞 CAT、ATP、MRC complex I、MRC complex III 水平均显著升高 (均 $P < 0.001$), 见表 4。

表 2 各组细胞成肌分化相关基因表达的比较($\bar{x} \pm s$)**Table 2** Comparison of gene expression related to myoblastic differentiation in cells of all groups($\bar{x} \pm s$)

Group	MyHC mRNA	Myod mRNA	MyHC protein	Myod protein
Blank	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.13	0.61 ± 0.05	0.48 ± 0.07
Quercetin	1.22 ± 0.09***	1.14 ± 0.07*	0.67 ± 0.06*	0.56 ± 0.05*
H ₂ O ₂	0.48 ± 0.08***	0.59 ± 0.07***	0.32 ± 0.03***	0.25 ± 0.03***
H ₂ O ₂ + quercetin	0.79 ± 0.08###	0.70 ± 0.04###	0.47 ± 0.06###	0.41 ± 0.08##

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with H₂O₂ group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$; MyHC: Myosin heavy chain; Myod: Myoblasts determine genes.

表 3 各组细胞线粒体活性氧 (ROS) 荧光强度及超氧化物歧化酶 1 (SOD1) 表达的比较($\bar{x} \pm s$)**Table 3** Comparison of mitochondrial reactive oxygen species (ROS) fluorescence intensity and superoxide dismutase 1 (SOD1) expression in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	Mean fluorescence intensity(a. u)	SOD1 mRNA	SIRT1 mRNA	SOD1 protein	SIRT1 protein
Blank	52.56 ± 1.97	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.14	0.64 ± 0.09	0.87 ± 0.07
Quercetin	48.46 ± 4.05*	1.21 ± 0.06***	1.36 ± 0.07***	0.76 ± 0.09*	1.00 ± 0.10**
H ₂ O ₂	119.53 ± 13.06***	0.34 ± 0.06***	0.47 ± 0.06***	0.24 ± 0.03***	0.34 ± 0.07***
H ₂ O ₂ + quercetin	102.91 ± 8.93##	0.57 ± 0.04###	0.71 ± 0.10###	0.43 ± 0.06###	0.65 ± 0.09###

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with H₂O₂ group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$.

表 4 各组细胞线粒体动力学相关指标活性的比较($\bar{x} \pm s$)**Table 4** Comparison of mitochondrial dynamics related indexes in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	CAT ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg protein}^{-1}$)	ATP ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	MRC complex I ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg protein}^{-1}$)	MRC complex III ($\mu\text{mol} \cdot \text{mg protein}^{-1}$)
Blank	28.66 ± 2.18	14.98 ± 1.09	19.77 ± 1.01	14.34 ± 1.26
Quercetin	35.62 ± 3.89**	16.32 ± 1.13*	23.28 ± 2.48**	16.23 ± 1.47*
H ₂ O ₂	18.13 ± 1.78***	8.36 ± 0.58***	9.87 ± 1.01***	7.01 ± 1.01**
H ₂ O ₂ + quercetin	23.97 ± 2.72###	12.67 ± 1.50###	14.19 ± 0.75###	10.17 ± 1.35###

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with H₂O₂ group, ### $P < 0.001$; CAT: Catalase; ATP: Adenosine triphosphate; MRC: Mitochondrial respiratory chain.

讨 论

研究表明,氧化损伤会导致卫星细胞数量或功能受到限制,从而导致肌肉再生不完全和过度纤维化^[10-11]。研究表明,槲皮素对运动造成的骨骼肌损伤具有保护作用^[12]。本研究通过体外培养卫星细胞,用H₂O₂刺激细胞模拟急性骨骼肌损伤的氧化损伤模型,结果发现,槲皮素可以明显促进H₂O₂刺激后的卫星细胞增殖。同时还观察到,经槲皮素处理后,卫星细胞的死亡率明显降低,提示槲皮素可以通过促进卫星细胞增殖,抑制卫星细胞死亡来减轻损伤。MYHC、Myod表达可被用于判断成肌分化的程度^[13]。本研究发现,槲皮素削弱了H₂O₂对MyHC、Myod表达的抑制作用,提示槲皮素可以抵消H₂O₂诱导的卫星细胞成肌分化抑制。

损伤后激活的卫星细胞的RNA测序结果发现,线粒体基因显著差异表达,这表明骨骼肌损伤后的卫星细胞中线粒体代谢活跃^[14]。本研究中,经槲皮素处理后可以显著降低H₂O₂诱导的线粒体中ROS水平的升高。此外,还观察到槲皮素上调了SOD1、SIRT1的表达,这与彭晶^[15]结果一致。H₂O₂过量积累会导致氧化损伤、线粒体功能障碍,最终导致细胞死亡。本研究还发现,槲皮素可显著削弱H₂O₂对CAT、ATP、MRC complex I、MRC complex III活性的抑制作用,以上结果提示槲皮素可通过清除线粒体ROS数量、促进线粒体呼吸,保护了线粒体功能稳定性。

本研究提示:槲皮素通过调节线粒体稳态,减轻氧化损伤来促进骨骼肌再生。

参考文献:

[1] QUALLS A E, SOUTHERN W M, CALL J A. Mitochondria - cytokine crosstalk following skeletal muscle injury and disuse: A mini - review [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2021, 320 (5): C681—C688.

- [2] HEISS R, JANKA R, UDER M, *et al.* Imaging of muscle injuries in sports medicine [J]. *Radiologie (Heidelb)*, 2023, 63 (4): 249—258.
- [3] 彭小锋, 李秀壮, 唐蓉萍, 等. 槲皮素的生物活性及应用研究进展[J]. 山东化工, 2024, 53(8): 136—139.
- [4] 姚思凡, 张鑫, 戴月英, 等. 槲皮素通过介导 JNK 信号通路抑制线粒体凋亡途径的神经保护作用[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(2): 256—262.
- [5] SHEN H, LV Y, SHEN X Q, *et al.* Implantation of muscle satellite cells overexpressing myogenin improves denervated muscle atrophy in rats [J/OL]. *Braz J Med Biol Res*, 2016, 49 (2): e5124. 2016 - 02 - 05 [2024 - 08 - 06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26871970/>.
- [6] 张帅, 安胜军, 崔清卓, 等. 丹参有效成分最佳配伍对载脂蛋白 E^{-/-}小鼠血管外膜成纤维细胞增殖的影响[J]. 世界中医药, 2023, 18(3): 320—323.
- [7] QIU Z, HE Y, MING H, *et al.* Lipopolysaccharide (LPS) aggravates high glucose - and hypoxia/reoxygenation - induced injury through activating ROS - dependent NLRP3 inflammasome - mediated pyroptosis in H9C2 cardiomyocytes [J/OL]. *J Diabetes Res*, 2019, 2019: 8151836. 2019 - 02 - 17 [2024 - 08 - 09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30911553/>.
- [8] 夏君彦. 益气活血中药调节线粒体自噬改善心肌细胞缺氧复氧损伤的机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- [9] 侯美佳. STa 引起肠上皮细胞线粒体途径细胞凋亡机制的探究[D]. 黑龙江, 哈尔滨: 东北农业大学, 2022.
- [10] 屈仲华. 点按法对颈肌慢性损伤模型大鼠肌细胞凋亡及肌卫星细胞转录因子表达的影响[D]. 福建 福州: 福建中医药大学, 2023.
- [11] RELAIX F, ZAMMIT P S. Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: The cell on the edge returns centre stage [J]. *Development*, 2012, 139 (16): 2845—2856.
- [12] 马玉珍, 舒田, 潘子君, 等. 槲皮素促进大鼠离心运动后骨骼肌线粒体自噬相关蛋白的表达[J]. 武警后勤学院学报(医学版), 2018, 27(6): 477—480.
- [13] 李菁璇. H19 调控猪骨骼肌卫星细胞分化的作用机制研究[D]. 湖北 武汉: 华中农业大学, 2020.
- [14] PESSEMESE L, TINTIGNAC L, BLANCHET E, *et al.* Regulation of mitochondrial activity controls the duration of skeletal muscle regeneration in response to injury [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12249.
- [15] 彭晶. 槲皮素重塑巨噬细胞线粒体功能缓解 LPS 所致氧化损伤的机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2023.

(收稿日期 2024 - 10 - 20)