

李迪,李杨,吴迪. 姜黄素纳米乳的制备及对大鼠心肌缺血再灌注的保护作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(5): 97-103.
Li D, Li Y, Wu D. Preparation of curcumin nanoemulsion and its protective effect on myocardial ischemia-reperfusion in rats [J].
Chin J Comp Med, 2020, 30(5): 97-103.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.05.015

姜黄素纳米乳的制备及对大鼠心肌缺血再灌注的保护作用

李迪^{1*}, 李杨², 吴迪¹

(1.大庆油田总医院心内科,黑龙江 大庆 163000; 2.大庆市人民医院,黑龙江 大庆 163001)

【摘要】 目的 构建姜黄素(CUR)纳米乳给药系统并研究其对大鼠心肌缺血再灌注的保护作用和作用机制。方法 制备姜黄素纳米乳(CUR-NMs)并通过透射电镜对其进行形态表征;以冠状动脉左前降支结扎法建立大鼠心肌缺血再灌注模型,随机将大鼠分为假手术组、模型组、CUR处理组和 CUR-NMs处理组,CUR处理组和 CUR-NMs处理组在缺血前4 h分别腹腔注射 CUR(20 mg/kg)和 CUR-NMs(20 mg/kg)预处理,模型组以等体积溶剂预处理;检测各组大鼠血流动力学变化;TUNEL染色检测大鼠心肌细胞凋亡情况;试剂盒检测 CK、LDH、MDA 和 SOD水平;蛋白印记实验检测心肌 calpain1、calpastatin、Bcl-2、cleaved-caspase 3 蛋白表达变化。结果 制备的 CUR-NMs大小均一,形态圆整,粒径为(121±23) nm。模型组大鼠缺血30 min再松开灌注2 h后 LVDP、+dp/dtmax 和-dp/dtmax 指标均明显下降($P<0.01$),血清 LDH、CK、MDA 明显升高,SOD 显著降低($P<0.01$);相较于模型组,CUR处理组和 CUR-NMs处理组大鼠 LVDP、+dp/dtmax 和-dp/dtmax 均有不同程度升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),LDH、CK、MDA 显著下降,SOD 明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 CUR处理组相比,CUR-NMs处理组 LVDP、+dp/dtmax 和-dp/dtmax 升高幅度更大($P<0.01$),LDH、CK、MDA 降低,SOD 升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与假手术组相比,模型组心肌细胞凋亡明显增加($P<0.01$),calpain1 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达明显上调,Bcl-2 和 calpastatin 蛋白表达显著下调($P<0.01$);相较于模型组,CUR处理组和 CUR-NMs处理组心肌细胞凋亡明显减少($P<0.01$),calpain1 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达显著下调,Bcl-2 和 calpastatin 蛋白表达明显上调($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 CUR处理组相比,CUR-NMs处理组心肌细胞凋亡明显减少($P<0.01$) calpain1 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达下调,Bcl-2 和 calpastatin 蛋白表达上调($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 CUR-NMs可改善大鼠心肌缺血再灌注损伤,且效果优于 CUR;该效应可能与增强细胞摄取、抑制 calpain1 蛋白表达和活性有关。

【关键词】 姜黄素;纳米乳;心肌缺血再灌注;钙蛋白酶1;凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 05-0097-07

Preparation of curcumin nanoemulsion and its protective effect on myocardial ischemia-reperfusion in rats

LI Di^{1*}, LI Yang², WU Di¹

(1. Department of Cardiology, Daqing Oilfield General Hospital, Daqing 163000, China.

2. Daqing People's Hospital, Daqing 163001)

【Abstract】 **Objective** We constructed a curcumin (CUR) nanoemulsion drug delivery system to study its protective effect on myocardial ischemia-reperfusion in rats and elucidate the underlying mechanisms. **Methods** Curcumin nanoemulsions (CUR-NMs) were produced and morphologically characterized by transmission electron microscopy. The rat

model of myocardial ischemia-reperfusion was established by ligation of the left anterior descending coronary artery. The rats were randomly divided into sham operation, model, CUR treatment, and CUR-NMs treatment groups. The CUR treatment and CUR-NMs treatment groups were intraperitoneally administered CUR (20 mg/kg) and CUR-NMs (20 mg/kg) 4 h before ischemia. The hemodynamic changes were detected in each group of rats. TUNEL staining was used to measure the apoptosis of rat myocardial cells. CK, LDH, MDA, and SOD levels were detected using commercial kits. The protein expression of calpain1, calpastatin, Bcl-2, and cleaved-caspase 3 were detected by western blot. **Results** The prepared CUR-NMs are uniform in size, round in shape, and have a particle size of (121 ± 23) nm. After 30 minutes of ischemia and 2 hours of reperfusion, Left ventricular developmental pressure (LVDP), maximal left ventricular pressure rising rate (dp/dt_{max}), and maximal left ventricular pressure decreasing rate ($-dp/dt_{max}$) indicators in the model group were significantly decreased ($P < 0.01$), serum LDH, CK, and MDA were significantly increased, and SOD was significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the model group, the LVDP, dp/dt_{max} , and $-dp/dt_{max}$ of the CUR-treated and CUR-NMs-treated groups were all increased to varying degrees ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), whereas LDH, CK, and MDA were significantly decreased, and SOD was significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the CUR-treated group, LVDP, dp/dt_{max} , and $-dp/dt_{max}$ increased in the CUR-NMs treatment group ($P < 0.01$), serum LDH, CK, and MDA decreased, and SOD increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the sham operation group, myocardial apoptosis in the model group was significantly increased ($P < 0.01$), the expression levels of calpain1 and cleaved-caspase 3 were significantly increased, and the levels of Bcl-2 and calpastatin were significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the model group, myocardial apoptosis was significantly reduced in the CUR-treated and CUR-NMs-treated groups ($P < 0.01$), the expression levels of calpain1 and cleaved-caspase 3 were significantly reduced, and the levels of Bcl-2 and calpastatin were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the CUR-treated group, myocardial apoptosis was significantly reduced in the CUR-NMs-treated group ($P < 0.01$), calpain1 and cleaved-caspase 3 proteins were downregulated, and Bcl-2 and calpastatin proteins were upregulated ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusions** CUR-NMs can improve myocardial ischemia-reperfusion injury in rats more effectively than CUR. This effect may be related to enhanced cell uptake or inhibited calpain1 protein expression and activity.

【Keywords】 curcumin; nanoemulsion; myocardial ischemia-reperfusion; calpain1; apoptosis

心肌缺血再灌注损伤指冠状动脉部分或完全急性阻塞后,一定时间又重新获得再通,但其组织损伤反而呈进行性加重的病理过程^[1]。一般来说,休克治疗、动脉搭桥术、溶栓疗法、经皮腔内冠脉血管成形术、心脏外科体外循环、心肺脑复苏、断肢再植和器官移植等方法可引起心肌缺血再灌注^[2]。心肌缺血再灌注损伤可加重原有的损伤,引起心肌细胞的结构及功能发生不可逆性改变^[3]。因此如何预防心肌缺血再灌注损伤具有重要的临床意义。

天然化合物由于其安全有效,并且副作用小,受到全球研究学者的关注。姜黄素(Curcumin, CUR)是姜黄根中的多酚类物质,具有降血脂、抗肿瘤、抗炎、利胆、抗氧化等作用^[4-5]。CUR可降低胆固醇吸收和抵抗炎症,因而可降低心血管疾病的风险,具有心脏保护作用^[4-5]。但作为药物来讲,CUR脂溶性较强,但在水中很难溶解,口服吸收困难,靶细胞不易摄取,这限制了它的临床应用。近年来,新型给药系统,如缓控释给药系统、靶向给药系统、纳米给药系统、透皮给药系统、粘附给药系统等,发展迅速并且解决了许多药物的溶解、释放以及靶向

性问题。CUR纳米乳(CUR nanoemulsion, CUR-NMs)解决了CUR水溶性问题,目前已用于抗炎、抗肿瘤及组织器官损伤保护等。但CUR-NMs是否对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用还未有研究报道。本研究通过构建CUR-NMs药物载体,观察其对大鼠心肌缺血再灌注的保护作用和作用机制,为CUR的临床应用提供更多的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康清洁级雄性SD大鼠40只,体重180~200g,由北京维通利华实验动物有限公司提供[SCXK(京)2016-0001],本实验获本院伦理委员会批准,批准文号:20180825。所有动物饲养于黑龙江中医药大学屏障环境中[SYXK(黑)2018-007],每笼3~4只动物,自由饮水、摄食,12h光照/12h黑暗,温度20℃~25℃,相对湿度40%~70%。实验前动物饲养一周以适应动物房环境。整个动物实验期间严格按实验动物3R原则给予实验动物人道主义关怀。

1.2 主要试剂与仪器

姜黄素(批号 20181221)购自大连美仑生物科技有限公司;棕榈油和吐温-80 购自国药集团化学试剂有限公司;CK、LDH、MDA 和 SOD 试剂盒购自南京建成生物工程有限公司;calpain1、calpastatin、Bcl-2、caspase 3 抗体购自美国 CST 公司;GAPDH 抗体购自武汉博士德公司;异氟烷购自北京华中海威公司;TUNEL 染色试剂盒(货号 ATK00001)购自武汉普健生物公司。电子天平(赛多利斯);高速剪切机(德国 IKA);高压均质机(德国 APV 公司);CX31 倒置显微镜(日本奥林巴斯);64R 高速低温离心机(美国贝克曼公司);JEOL JEM-2100F 场发射透射电子显微镜(日本 JEOL);NanoSight NS300 纳米颗粒跟踪分析仪(英国 Malvern 公司);小动物心电图监测系统(美国 IVORX 公司);SpectraMax 190 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);AI600 凝胶成像仪(美国 GE 公司);小动物麻醉机(购自北京众实迪创科技发展有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 CUR 纳米乳的构建及表征

参考文献^[6]制备 CUR-NMs, 首先将处方中的棕榈油和姜黄素溶于无水乙醇中作为油相, 使其浓度为 1 mg/mL, 以去离子水作为连续相制备水包油型乳剂。将油相加入到水相中 12000 rpm 剪切 5 min 形成初乳, 随后用高压均质机以 15000 PSI 的压力进行均质 10 min, 得到包载姜黄素的 CUR-NMs。取制备的 CUR-NMs, 用去离子水稀释 100 倍, 移液枪吸取 5 μ L 样品溶液滴加到覆有碳支持膜的铜网上, 自然条件下晾干, 利用透射电子显微镜观察 CUR-NMs 的表面形态, 同时通过纳米颗粒分析仪对其粒径分布进行测定。

1.3.2 分组及给药

SD 大鼠 40 只, 其中 30 只冠状动脉左前降支结扎 30 min 再松开灌注 2 h 建立心肌缺血再灌注模型。按照随机数字表将其分为三组, 每组 10 只动物, 分别为模型组、CUR 处理组和 CUR-NMs 处理组, CUR 处理组和 CUR-NMs 处理组在缺血前 4 h 分别腹腔注射 CUR (20 mg/kg) 和 CUR-NMs (20 mg/kg) 预处理, 模型组以等体积溶剂预处理。剩余 10 只动物只手术但不做结扎处理设为假手术组, 假手术组予以等体积上述溶剂预处理。手术时, 实验动物采用小动物麻醉机给与异氟烷持续吸入麻醉, 维

持浓度为 3%。

1.3.3 指标检测

多导生理记录仪分别于基础状态、再灌注 30、60、90、120 min 时记录 LVDP、+ dp/dtmax 和 -dp/dtmax。生理记录仪信号采集结束后, 各大鼠进行腹主动脉取血约 3 mL, 室温下静置至凝固, 随后 3000 rpm 离心 10 min, 取上层血清, 参照肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒说明书检测血清 CK、LDH、MDA 和 SOD 水平。

1.3.4 TUNEL 染色检测大鼠心肌细胞凋亡情况

取血后迅速处死大鼠, 并进行解剖, 取出心脏, 切取结扎部位周边组织, 用生理盐水冲洗表面血液后置于 4% 多聚甲醛中固定, 参考文献^[7]将收集好的心肌组织石蜡包埋、切片、苏木素染核, 将切面放入 Tris-HCL (含 3% BSA 和 20% 牛血清) 中 15 $^{\circ}$ C ~ 25 $^{\circ}$ C 浸泡, 以 PBS 浸泡切片两次, 晾干, 取 50 μ L TUNEL 反应混合液滴于切片上, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1.5 h, PBS 洗 3 遍, 稍微晾干, 于倒置显微镜下观察组织细胞凋亡情况, 并拍照, 随机选取 5 个非重叠 400 倍镜视野, 计数凋亡心肌细胞数和心肌细胞总数, 计算凋亡指数, 心肌细胞凋亡指数 = 凋亡心肌细胞数 / 心肌细胞总数 \times 100%。

1.3.5 蛋白印记实验检测心肌 calpain1、calpastatin、Bcl-2、caspase 3 蛋白表达变化

取各组大鼠心脏组织 0.5 g, 加入细胞组织裂解液于均质仪研碎, 冰上静置 5 min, 参考文献^[8]的方法进行蛋白提取、SDS-PAGE 电泳、转膜及封闭。按需求加入 calpain1 抗体(1:2000)、calpastatin 抗体(1:1000)、Bcl-2 抗体(1:1000)、caspase 3 抗体(1:800)或 GAPDH 抗体(1:5000)4 $^{\circ}$ C 温育过夜。次日, TBST 洗膜 3 次, 再加入相应的抗兔 IgG-HRP 二抗(1:2000), 室温杂交 1 h, PVDF 膜以 ECL 发光试剂盒进行显色, 用 AI600 进行成像并对蛋白印迹条带进行处理和分析。

1.4 统计学方法

应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 数据以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两多重比较方法用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 差异有统计学意义(双尾)。

2 结果

2.1 CUR-NMs 的表征

图 1A 所示,制备的 CUR 纳米乳外观呈现类球形,大小较为均一,通过纳米颗粒跟踪分析仪对其粒径分布进行分析,结果如图 1B,其平均粒径大小为(121±23) nm。

2.2 各组大鼠血流动力学变化

与假手术组相比,模型组大鼠缺血 30 min 再松开灌注 2 h 后 LVDP、+dp/dtmax 和-dp/dtmax 指标均明显下降($P<0.01$);相较于模型组,CUR 处理组和 CUR-NMs 处理组大鼠 LVDP、+dp/dtmax 和-dp/dtmax

均有不同程度升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 CUR 处理组相比,CUR-NMs 处理组 LVDP、+dp/dtmax 和-dp/dtmax 升高幅度更大($P<0.01$),见表 1。

2.3 各组大鼠血清 LDH、CK、MDA、SOD 水平比较

大鼠缺血 30 min 再松开灌注 2 h 后,相较于假手术组,模型组大鼠血清 LDH、CK、MDA 明显升高,SOD 显著降低($P<0.01$);与模型组相比,CUR 处理组和 CUR-NMs 处理组 LDH、CK、MDA 显著下降,SOD 明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与 CUR 处理组相比,CUR-NMs 处理组 LDH、CK、MDA 降低,SOD 升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表 2。

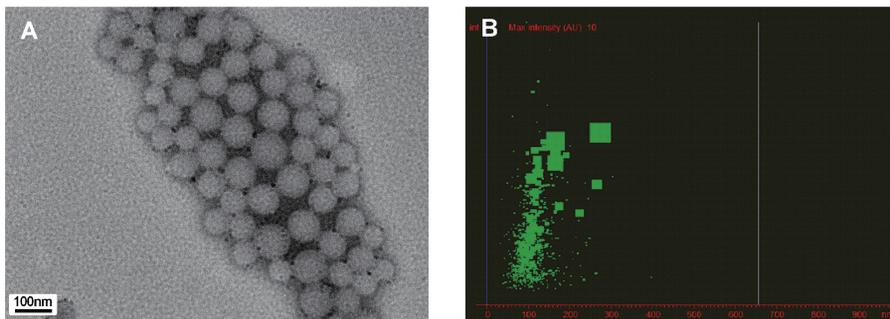


图 1 CUR-NMs 表面形态及其粒径分布

Figure 1 Surface morphology and particle size distribution of CUR-NMs

表 1 各组大鼠缺血再灌注血流动力学参数的变化($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Changes in the hemodynamic parameters of ischemia-reperfusion rats in each group

组别 Groups	左心室发展压 Left ventricular development pressure	左心室内压最大上升速率 Maximum rate of rise of left ventricular pressure	左心室内压最大下降速率 Maximum rate of decrease in left ventricular pressure
假手术组 Sham group	102.30±8.61	98.25±9.13	99.67±9.29
模型组 Model group	56.58±4.12**	60.57±6.39**	60.08±4.83**
CUR 处理组 CUR treatment group	71.12±5.23#	77.67±5.25#	78.12±5.66#
CUR-NMs 处理组 CUR-NMs treatment group	86.16±7.16 $\Delta\Delta\#\#$	94.33±7.52 $\Delta\Delta\#\#$	93.17±7.02 $\Delta\Delta\#\#$

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$, $\#\#P<0.01$;与 CUR 处理组相比, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

Note. Compared with the sham group,** $P<0.01$. Compared with the model group,# $P<0.05$, $\#\#P<0.01$. Compared with the CUR treatment group, $\Delta\Delta P<0.01$.

表 2 各组大鼠血清 LDH、CK、MDA、SOD 水平较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of serum LDH, CK, MDA, and SOD levels of the rats in each group

组别 Groups	乳酸脱氢酶(U/mL) LDH	肌酸激酶(U/mL) CK	丙二醛(nmol/mL) MDA	超氧化物歧化酶(U/mL) SOD
假手术组 Sham group	0.18±0.02	0.51±0.06	2.86±0.02	125.30±9.18
模型组 Model group	0.58±0.07**	0.98±0.08**	7.25±0.59**	76.72±6.23**
CUR 处理组 CUR treatment group	0.45±0.04#	0.78±0.05#	5.86±0.51#	98.12±7.02#
CUR-NMs 处理组 CUR-NMs treatment group	0.28±0.02 $\Delta\Delta\#\#$	0.62±0.04 $\Delta\Delta\#\#$	3.78±0.35 $\Delta\Delta\#\#$	116.63±8.63 $\Delta\Delta\#\#$

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$, $\#\#P<0.01$;与 CUR 处理组相比, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

Note. Compared with the sham group,** $P<0.01$. Compared with the model group,# $P<0.05$, $\#\#P<0.01$. Compared with the CUR treatment group, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$.

2.4 各组大鼠心肌细胞凋亡情况

大鼠缺血 30 min 再松开灌注 2 h 后,假手术组、模型组、CUR 处理组、CUR-NMs 处理组凋亡指数分别为 (1.98 ± 0.20) 、 (22.50 ± 2.12) 、 (15.00 ± 1.65) 、 (7.52 ± 0.66) 。与假手术组相比,模型组心肌细胞凋亡明显增加 ($P < 0.01$);与模型组相比,CUR 处理组和 CUR-NMs 处理组心肌细胞凋亡明显减少 ($P < 0.01$);而相较于 CUR 处理组,CUR-NMs 处理组心肌细胞凋亡明显减少 ($P < 0.01$),见图 2。

2.5 各组大鼠心肌 calpain1、calpastatin、Bcl-2、cleaved-caspase 3 蛋白表达变化

大鼠缺血 30 min 再松开灌注 2 h 后,模型组较假手术组 calpain1 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达明显上调,Bcl-2 和 calpastatin 蛋白表达明显下调 ($P < 0.01$);与模型组相比,CUR 处理组和 CUR-NMs 处理组 calpain1 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达显著下调,Bcl-2 和 calpastatin 蛋白表达明显上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);相较于 CUR 处理组,CUR-NMs 处理组 calpain1 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达下调,Bcl-2 和 calpastatin 蛋白表达上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) (见图 3,表 3)。

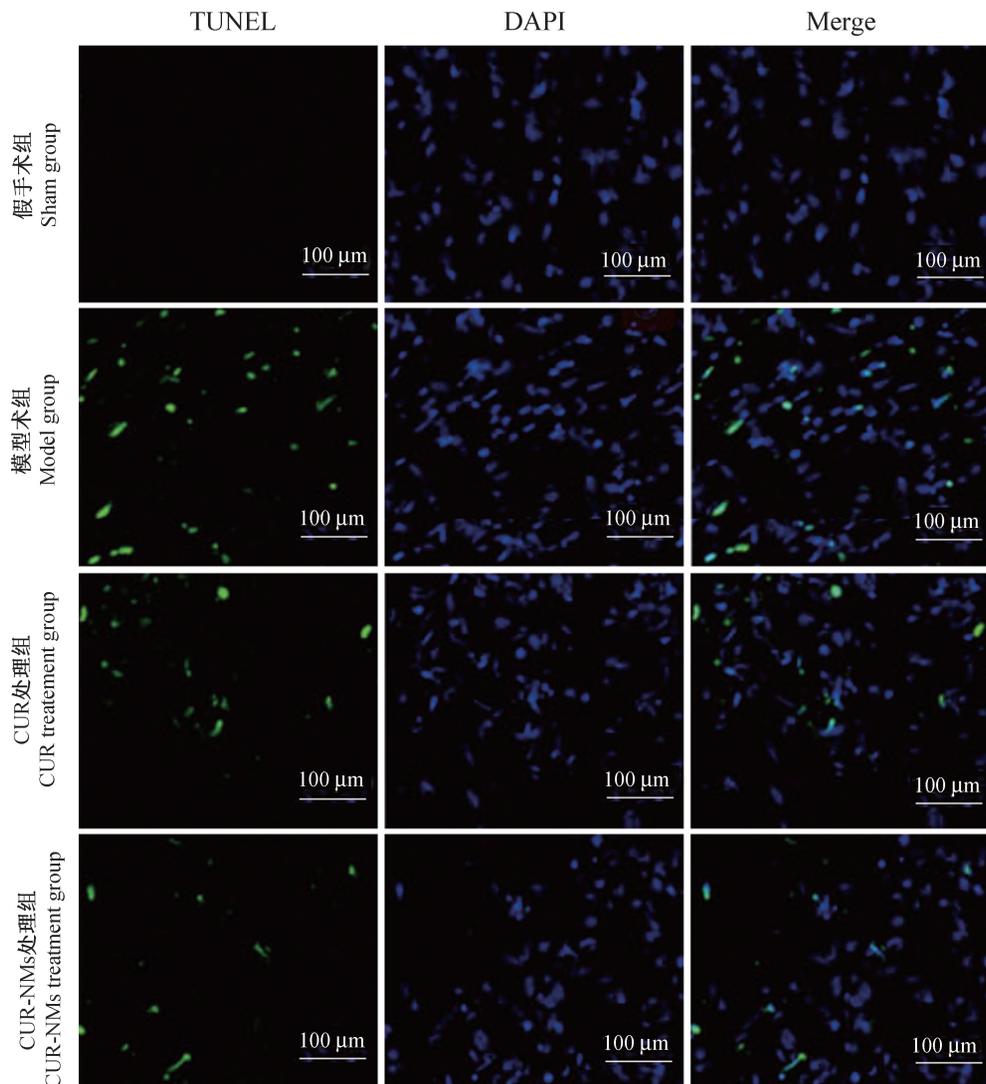


图 2 各组大鼠心肌细胞凋亡情况

Figure 2 Apoptosis of myocardial cells in each group

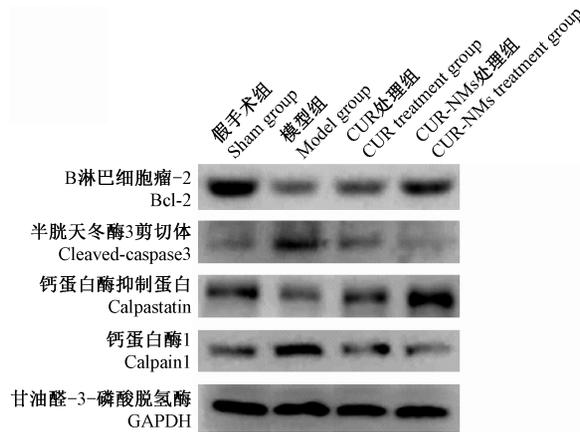


图 3 各组大鼠心肌 calpain1、calpastatin、Bcl-2、cleaved-caspase 3 表达变化

Figure 3 Changes in myocardial calpain1, calpastatin, Bcl-2, and cleaved-caspase 3 expression in each group of rats

表 3 各组大鼠心肌 calpain1、calpastatin、Bcl-2、cleaved-caspase 3 表达变化

Table 3 Changes in myocardial calpain1, calpastatin, Bcl-2, and cleaved-caspase 3 expression in each group of rats

组别 Groups	钙蛋白酶 1 Calpain1	钙蛋白酶抑制蛋白 Calpastatin	B 淋巴细胞瘤-2 Bcl-2	半胱天冬酶 3 剪切体 Cleaved-caspase 3
假手术组 Sham group	0.52±0.03	0.79±0.06	2.16±0.18	0.22±0.02
模型组 Model group	1.36±0.12**	0.36±0.02**	0.43±0.03**	0.97±0.11**
CUR 处理组 CUR treatment group	0.53±0.04##	0.61±0.06#	0.69±0.04##	0.36±0.03##
CUR-NMs 处理组 CUR-NMs treatment group	0.33±0.03 ^{△##}	1.28±0.11 ^{△△##}	1.03±0.09 ^{△△##}	0.17±0.01 ^{△##}

注:与假手术组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与 CUR 处理组相比,[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$ 。

Note. Compared with the sham group, ** $P<0.01$. Compared with model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$. Compared with CUR treatment group, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$.

3 讨论

一般来讲,在心肌缺血基础上恢复血流后组织损伤反而加重,甚至发生不可逆性损伤的现象称为心肌缺血再灌注损伤。心肌缺血再灌注能引起心功能改变,表现为心室舒张末期压力(VFDP)增大,心室收缩峰(VPSP)、心室内压 $\pm dp/dt_{max}$ 降低,室性期前收缩、阵发性室速及室颤等^[9]。心肌缺血再灌注还能破坏心肌超微结构,引起心肌能量代谢异常,如释放细胞内 LDH 和 CK^[10]。本研究模型组大鼠缺血 30 min 再松开灌注 2 h 后 LVDP、+dp/dt_{max} 和 -dp/dt_{max} 指标均明显下降,血清 LDH、CK 显著升高,提示本研究模型成功,心肌缺血再灌注引起心肌细胞损伤。而 CUR 和 CUR-NMs 处理均能抑制上述指标的变化,且与 CUR 相比,CUR-NMs 处理后心肌缺血再灌注模型鼠 LVDP、+dp/dt_{max} 和 -dp/dt_{max} 升高幅度更大,LDH 和 CK 下降更多。进一步研究发现,CUR 和 CUR-NMs 均能抑制心肌缺血再灌注引起的心肌细胞凋亡,二者中 CUR-NMs 的抑制效应更强。这些提示,CUR 和 CUR-NMs 均对

心肌缺血再灌注损伤具有保护作用,且 CUR-NMs 明显优于 CUR。研究显示,心肌缺血再灌注可产生大量的氧自由基和其降解产物(如 MDA),内源性自由基清除物(如 SOD)不足以将过多的氧自由基清除^[11]。而过多的氧自由基可导致细胞膜脂质过氧化,细胞通透性增加,引起氧化损伤^[12]。本研究显示,大鼠心肌缺血再灌注引起 MDA 增加,SOD 减少,而 CUR 和 CUR-NMs 可抑制 MDA 和 SOD 的变化,且 CUR-NMs 的抑制作用更强。提示 CUR 和 CUR-NMs 均可减轻心肌缺血再灌注引起的氧化损伤,CUR-NMs 效果更佳。

钙蛋白酶 1(calpain1)属于 Ca²⁺依赖性的半胱氨酸蛋白酶水解家族成员,其活性受到钙离子浓度和其天然的活性抑制分子 calpastatin 的限制^[13]。研究显示,毛蕊异黄酮可能通过抑制 calpain-1 的表达发挥抗脑缺血再灌注损伤作用^[14]。提示 calpain1 参与缺血再灌注损伤。为此,本研究观察了 calpain1 在心肌缺血再灌注中的变化。结果发现心肌缺血再灌注模型组细胞 calpain1 表达上调,而 calpastatin 表达下调,提示缺血再灌注大鼠心肌

calpain1 表达和活性增加。而 CUR 和 CUR-NMs 预处理后 calpain1 和 calpastatin 蛋白表达变化受到抑制,且 CUR-NMs 的抑制作用更强。提示 CUR 和 CUR-NMs 可能通过抑制 calpain1 蛋白表达和活性从而对心肌缺血再灌注损伤起到保护作用。

CUR 脂溶性较强,但在水中很难溶解。因此从制剂角度解决 CUR 的药物输送问题十分关键。纳米乳剂是脂质体输送亲脂性化合物的理想工具^[15]。纳米乳剂的表面特性与机体细胞膜的生物学特性类似,易被细胞摄取,因此在改善溶解度的同时也能够增加药物在体内的摄取^[16-17]。这是本研究 CUR-NMs 对心肌缺血再灌注保护作用强于 CUR 的可能原因。但 CUR-NMs 稳定性不佳,对于储存条件要求较高,工业化难度大,因而它的广泛应用还面临很大挑战。总之,本研究发现 CUR-NMs 可改善大鼠心肌缺血再灌注损伤,且效果优于 CUR;该效应可能与增强细胞摄取、抑制 calpain1 蛋白表达和活性有关。CUR-NMs 可能是临床治疗心肌缺血再灌注损伤的潜在药物。

参考文献:

- [1] Xu XZ, Luo B, Xiao Y, et al. Effects of lncRNA MALAT1-mediated β -catenin signaling pathway on myocardial cell apoptosis in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(21): 9557-9565.
- [2] 刘腾飞, 周建康, 黄团结, 等. MG53 蛋白对器官缺血再灌注损伤保护作用的现在与未来 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(20): 3248-3254.
- [3] 岳荣川, 杨小利, 张荣驿, 等. 丹参多酚对大鼠心肌缺血再灌注损伤的作用及机制 [J]. *中华心血管病杂志*, 2017, 45(12): 1072-1077.
- [4] Jafarinezhad Z, Rafati A, Ketabchi F, et al. Cardioprotective effects of curcumin and carvacrol in doxorubicin-treated rats: Stereological study [J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(11): 3581-3588.
- [5] 陈冬梅, 徐丽丽, 周建伟. 姜黄素通过 Wnt 信号通路调节人牙髓干细胞的成牙本质分化 [J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(25): 4018-4024.
- [6] 俞发, 张永昕. 姜黄素脂肪乳剂的制备工艺研究 [J]. *中药材*, 2015, 38(4): 838-840.
- [7] 李然, 刘立萍, 王哲, 等. 丹桅逍遥散对人乳腺癌 MCF-7 细胞株裸鼠移植瘤的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(2): 78-81.
- [8] Liu S, Qiu J, He G, et al. LncRNA MALAT1 acts as a miR-125A-3p sponge to regulate FOXM1 expression and promote hepatocellular carcinoma progression [J]. *J Cancer*, 2019, 10(26): 6649-6659.
- [9] 李超, 朱康生, 申军梅, 等. mito-KATP 通道在右美托咪定减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2017, 37(11): 1318-1321.
- [10] 王一茗, 束彦页, 尚莉莉, 等. 埋线预处理对缺血再灌注损伤 ZDF 大鼠心肌 ATG9A 及 p62 蛋白表达的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(12): 5524-5526.
- [11] Yang ZH, Lu YJ, Gu KP, et al. Effect of ulinastatin on myocardial ischemia-reperfusion injury through JNK and P38 MAPK signaling pathways [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(19): 8658-8664.
- [12] 尹婕, 李琦, 赵正, 等. 脂质过氧化炎症损伤模型中参莲提取物对巨噬细胞功能的药效与机制探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(10): 26-32.
- [13] Vo TM, Jain S, Burchett R, et al. A positive feedback loop involving nuclear factor IB and calpain 1 suppresses glioblastoma cell migration [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(34): 12638-12654.
- [14] 郭超, 卞涛, 卞伟, 等. 毛蕊异黄酮通过抑制 calpain-1 的表达发挥抗脑缺血再灌注损伤的研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(4): 41-45.
- [15] Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55(3): 329-347.
- [16] Ashour EA, Majumdar S, Alsheteli A, et al. Hot melt extrusion as an approach to improve solubility, permeability and oral absorption of a psychoactive natural product, piperine [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2016, 68(8): 989-998.
- [17] Hao Y, Wang L, Li J, et al. Enhancement of solubility, transport across madin-darby canine kidney monolayers and oral absorption of pranlukast through preparation of a pranlukast-phospholipid complex [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2015, 11(3): 469-477.

[收稿日期] 2019-12-04