

监管机构(FDA)认为是安全的^[5]。但许多文献报道了姜黄素对各种细胞的毒性作用,同时姜黄素剂量依赖性诱导心肌细胞坏死最近已经被报道,并指出在非在体模型中高浓度姜黄素能导致心肌细胞损伤^[6-9]。而且有文献指出高剂量姜黄素会增加细胞内储存钙的释放从而增高胞内钙浓度^[10,11]。

姜黄素是否会影响大鼠心室肌细胞离子通道至今尚不清楚。本项目的研究目的就是为了阐明是否高浓度姜黄素会带来心脏毒性,同时我们测试了高浓度姜黄素对大鼠心室肌细胞瞬时外向钾电流(transient outward potassium current, I_{to})和内向整流钾电流(inward rectifier potassium current, I_{ki})电生理作用。

材料与方法

1. 实验动物和试剂:成年清洁级SD大鼠250~300g,由温州医学院动物中心提供。I型胶原酶(collagenase I),牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA),姜黄素(curcumin),二甲亚砜(DMSO),N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸(HEPES),乙二醇-双四乙酸(EGTA),氯化镉($CdCl_2$),谷氨酸(L-glutamic acid),牛磺酸(taurine), $CaCl_2$, K_2ATP 为Sigma公司产品。其余化学试剂为国产分析纯试剂。

2. 溶液配制:分离心室肌细胞和记录离子通道电流所使用的溶液配制如下:①无钙台氏液: $NaCl$ 137mmol/L, KCl 5.4mmol/L, $MgCl_2$ 1.0mmol/L, NaH_2PO_4 0.33mmol/L, HEPES 10mmol/L, Glucose 10mmol/L,用NaOH调pH值至7.35;②KB液: KCl 40mmol/L, KH_2PO_4 20mmol/L, $MgSO_4$ 3.0mmol/L, KOH 80mmol/L,谷氨酸 50mmol/L,牛磺酸 20mmol/L, HEPES 10mmol/L, Glucose 10mmol/L, EGTA 0.5mmol/L,用KOH调pH值至7.35;③ I_{to} 和 I_{ki} 电极内液: KCl 65mmol/L, KF 80mmol/L, $MgCl_2$ 1.0mmol/L, K_2ATP 5.0mmol/L, EGTA 10mmol/L, HEPES 10mmol/L, KOH调pH值至7.3,记录 I_{to} 和 I_{ki} 的细胞外液为台氏液;④50 $\mu mol/L$ 姜黄素灌流液:用DMSO配制10mmol/L姜黄素溶液,然后分别用不同通道外液将其稀释至50 $\mu mol/L$ 备用。所有液体均用双蒸水(RIOS5+, MILLIPORE 美国)配制。

3. SD大鼠心室肌细胞分离:SD大鼠麻醉后取心分别以无钙台式液和I型胶原酶行Langendoff灌流后,获得酶解分离后的心室肌细胞,并置入含BSA的KB液稳定1h后备用。

4. 全细胞膜片钳记录:在倒置显微镜(TE2000-U, Nikon, 日本)下选择边缘清楚,表面光滑,横纹清晰,无收缩的细胞。采用Hamill等首创的全细胞膜片钳记录方法,在电压钳制模式下记录各种通道电流。

5. 通道电流的刺激参数设置:记录 I_{to} 时细胞外液中加入 $CdCl_2$ 0.3mmol/L以阻断钙电流,加入 $CoCl_2$ 1mmol/L以阻断钙激活氯电流(I_{to2})。记录 I_{to} 的I-V曲线时 V_h 为-90mV,先给予1个25ms~-40mV的去极化刺激以灭活 I_{Na} 。 V_s 从-40mV开始,以10mV阶跃刺激至+50mV,时程400ms,频率0.2Hz。记录 I_{ki} 细胞外液中加入 $CdCl_2$ 0.3mmol/L以阻断钙

电流。记录 I_{ki} 的I-V曲线时 V_h 为-40mV, V_s 从-120mV开始,以10mV阶跃刺激至+50mV,时程400ms,频率0.2Hz。

6. 姜黄素灌流和数据采集:每个通道电流记录时细胞灌流药物前采集对照电流曲线,然后用微灌流系统(DADVC-8PP, ALA SCIENTIFIC, 美国),灌流50 $\mu mol/L$ 姜黄素5min,记录灌药后的电流曲线,然后用空白细胞外液冲洗5min再次记录电流曲线。原始电流数据采用pulsfit进行分析和测量,Originpro8.5绘图。

7. 统计学方法:实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,给药前后采用配对t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 姜黄素对大鼠心室肌细胞钾离子通道的抑制率:(1) I_{to} :以测试电压50mV,对5个大鼠心室肌细胞的 I_{to} 峰值电流密度作观察指标,得出50 $\mu mol/L$ 姜黄素对 I_{to} 的抑制率为 $(84 \pm 11)\%$ (表1)。图1为50 $\mu mol/L$ 姜黄素对 I_{to} 影响的原始电流图。(2) I_{ki} :以测试电压-80mV,对5个大鼠心室肌细胞的 I_{ki} 峰值电流密度作观察指标,得出50 $\mu mol/L$ 姜黄素对 I_{ki} 的抑制率为 $(59 \pm 8)\%$ (表1)。图2为50 $\mu mol/L$ 姜黄素对 I_{ki} 影响的原始电流图。

表1 姜黄素(50 $\mu mol/L$)对大鼠心室肌细胞 I_{to} 和 I_{ki} 的影响($\bar{x} \pm s$)

离子通道 电 流	细胞数	给药前 (pA/pF)	给药后 (pA/pF)	抑制率 (%)
I_{to}	5	7.7 ± 3.3	$1.1 \pm 0.8^*$	84 ± 11
I_{ki}	5	-9.6 ± 1.1	$-4.0 \pm 1.1^{**}$	59 ± 8

与给药前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

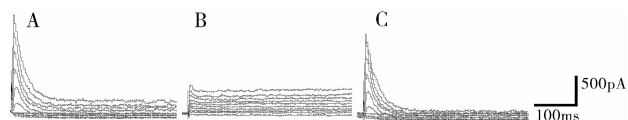


图1 姜黄素(50 $\mu mol/L$)对 I_{to} 原始电流的影响

A. 灌流姜黄素前的 I_{to} 电流曲线;B. 灌流50 $\mu mol/L$ 姜黄素后的 I_{to} 电流曲线;C. 细胞外液冲洗后的 I_{to} 电流曲线

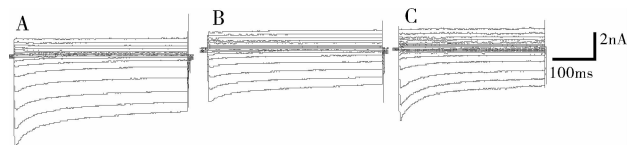


图2 姜黄素(50 $\mu mol/L$)对 I_{ki} 原始电流的影响

A. 灌流姜黄素前的 I_{ki} 电流曲线;B. 灌流50 $\mu mol/L$ 姜黄素后的 I_{ki} 电流曲线;C. 细胞外液冲洗后 I_{ki} 电流曲线

2. 姜黄素对大鼠心室肌细胞 I_{to} 和 I_{ki} 电流密度-电压曲线的影响:(1)50 $\mu mol/L$ 姜黄素对 I_{to} 电流密

度 - 电压曲线的影响如图 3 所示, I_{to} 的激活电压在 -10mV , 电流随刺激电压增高而增大, 并呈现出外向整流的特点。 $50\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素对所有指令电压条件下均引起 I_{to} 的降低, 但不改变其外向整流的特点。 (2) $50\mu\text{mol/L}$ 姜黄素对 I_{kl} 电流密度 - 电压曲线的影响如图 4 所示, I_{kl} 在 $-70 \sim -40\text{mV}$ 的刺激电压以下呈现很强的内向整流特点, 随后转为外向整流。 $50\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素对所有指令电压条件下均引起 I_{kl} 的降低, 但不改变其整流性的两个阶段。

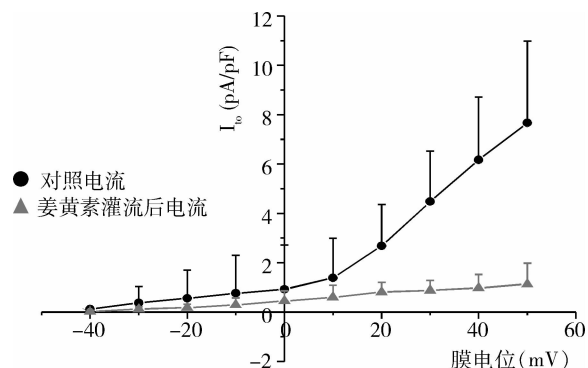


图 3 姜黄素 ($50\mu\text{mol/L}$) 对大鼠心室肌细胞瞬时外向钾通道 I_{to} 的电流密度 - 电压曲线的影响 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

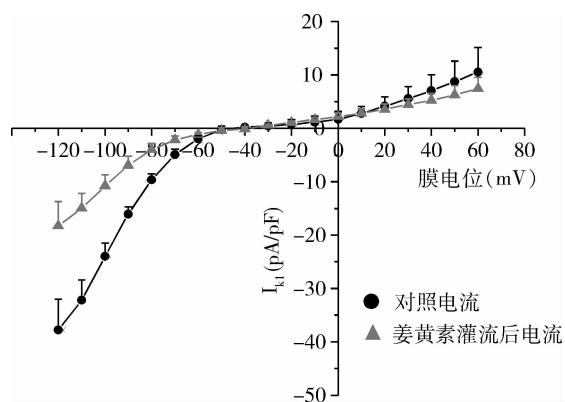


图 4 姜黄素 ($50\mu\text{mol/L}$) 对大鼠心室肌细胞内向整流钾通道 I_{kl} 的电流密度 - 电压曲线的影响 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

讨 论

在本项研究中,我们测试了姜黄素对急性酶解分离大鼠心室肌细胞离子通道功能的影响。姜黄素自从结构被确定以来,被证明有多种药理学效果和治疗作用,同时也是最近研究的热点。在药物对心肌的治疗作用和毒性反应中起主要作用的 3 种离子通道分别是钠、钾和钙通道。用一种相对简单的构效关系来解释就是药物通过改变一种细胞膜或胞内离子通道的活性来干预心脏功能,引起节律细胞、传导纤维和(或)收缩细胞不正常的除极和(或)复极从而导致心

脏节律的破坏和心脏收缩舒张功能失常。现在普遍认为药物引起心脏的毒性作用不仅仅是指传统意义上的心血管药物,而可以是任何化学结构的药物,只要它能影响心脏功能,甚至在某一时刻能引起致命的影响。我们通过观察姜黄素对离子通道的作用来评估其对心脏电生理的影响。我们发现姜黄素和离子通道的关系对研究和探讨心脏毒性、不良反应和治疗效果都有至关重要的作用。

最近, Enyeart 等报道了姜黄素是目前对牛肾上腺束状带细胞 $K_{v1.4}$ 钾通道最强的抑制剂, 同时它还抑制 b_{TREK-1} 钾离子通道, 并刺激肾上腺皮质细胞分泌皮质醇。他们假设姜黄素的某些生物学特性包括它的治疗作用, 可能通过调节钾离子通道的抑制率来实现的。 $K_{v1.4}$ 通道的电流相对于大鼠心室肌细胞而言就是 I_{to} 电流。它是一种心脏动作电位早期复极中瞬间激活和失活的钾电流。 I_{to} 电流量的下降会明显减慢 1 期复极, 并抬高动作电位平台。同时 I_{to} 电流改变导致的动作电位复极改变会对 L 型钙电流幅度和时程有较大影响, 从而相应的影响肌质网钙离子负荷、释放和细胞收缩能力。同时, 我们发现姜黄素能抑制 I_{kl} 电流, 而 I_{kl} 电流又是心肌细胞动作电位中稳定静息膜电位, 决定兴奋起点和启动复极的主要电流。这种电流的特点是当细胞膜轻度去极化时钾离子外流, 而进一步去极化时, 钾离子外流反而减少甚至消失。具有明显的内向整流性质, 所以被命名为内向整流钾电流, 其典型的电流曲线呈“N”形。因此, 调节 I_{kl} 电流对于心脏兴奋性和心脏节律相当重要, I_{kl} 电流被抑制会导致 QT 间期延长, 尖端扭转性室性心动过速, 室性室颤甚至猝死。

根据本课题组另一项对大鼠心脏离体灌流的实验观察发现, 低浓度姜黄素 ($0.1 \sim 10.0\mu\text{mol/L}$) 具有剂量依赖性的心脏功能增强作用, 而高浓度姜黄素 ($10 \sim 50\mu\text{mol/L}$) 能产生剂量依赖性的心脏功能抑制和致心律失常作用。同时在本实验中发现浓度 $> 50\mu\text{mol/L}$ 的姜黄素灌流液会使心肌细胞短期内死亡, 所以以 $50\mu\text{mol/L}$ 的浓度为例探讨姜黄素对心肌细胞的毒性作用, 结果表明高浓度姜黄素 ($50\mu\text{mol/L}$) 对心室肌细胞多通道的综合作用, 可以解释离体灌流心脏的心电图产生的 PR 间期延长、QRS 电压下降和时程延长等现象, 同时也可以解释心肌功能抑制, 收缩力减弱, 心律失常等现象。

本实验初步研究了高浓度姜黄素对大鼠心室肌细胞离子两种钾离子通道的影响, 提示高浓度姜黄素

对心脏具有一定的心肌抑制和致心律失常作用。低浓度的姜黄素是否也会对心肌细胞离子通道电流产生影响还需进一步研究明确。

参考文献

- 1 Milobedzka J, Kostanceki V, Lampe V. Structure of curcumin [J]. Chem Ber, 1910, 10(43): 2163
- 2 Heath DD, Khwaja F, Rock CL. Curcumin content of turmeric and curry powders [J]. FASEB J, 2004, 20(18): A125
- 3 Singh S. From exotic spice to modern drug? [J]. Cell, 2007, 130(5): 765-768
- 4 Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, et al. Curcumin: the Indian solid gold [J]. Adv Exp Med Biol, 2007, 595(10): 1-75
- 5 NCI D. Clinical development plan: curcumin [J]. J Cell Biochem Suppl, 1996, 26: 72-85
- 6 Kuttan R, Bhanumathy P, Nirmala K, et al. Potential anticancer activity of turmeric (Curcuma longa) [J]. Cancer Lett, 1985, 29(2): 197-202
- 7 Bhaumik S, Anjum R, Rangaraj N, et al. Curcumin mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves the production of reactive oxygen intermediates [J]. FEBS Lett, 1999, 456(2): 311-314
- 8 Fujisawa S, Atsumi T, Ishihara M, et al. Cytotoxicity, ROS-generation activity and radical-scavenging activity of curcumin and related compounds [J]. Anticancer Res, 2004, 24(2B): 563-569
- 9 Tanwar V, Sachdeva J, Kishore K, et al. Dose-dependent actions of curcumin in experimentally induced myocardial necrosis: a biochemical, histopathological, and electron microscopic evidence [J]. Cell Biochem Funct, 2010, 28(1): 74-82
- 10 Su CC, Lin JG, Li TM, et al. Curcumin-induced apoptosis of human colon cancer colo 205 cells through the production of ROS, Ca2+ and the activation of caspase-3 [J]. Anticancer Res, 2006, 26(6B): 4379-4389
- 11 Das R, Roy A, Dutta N, et al. Reactive oxygen species and imbalance of calcium homeostasis contributes to curcumin induced programmed cell death in Leishmania donovani [J]. Apoptosis, 2008, 13(7): 867-882

(收稿: 2012-03-15)

(修回: 2012-04-13)

胃癌患者辅助化疗后的生活质量及相关影响因素

林铁素 潘钰婷 胡孙宽 周琴 金嵘

摘要 **目的** 探讨辅助化疗对胃癌患者生活质量的影响及相关影响因素。**方法** 选取 2007~2009 年间温州医学院附属第一医院收治的胃癌患者。所有患者均在胃癌术后实施辅助化疗。采用 EORTC QLQ-C30 (V 3.0 中文版) 量表对患者化疗前及化疗后 3、6、12 个月的生活质量进行评估。**结果** 随着化疗方案实施时间的推移, 胃癌患者的生活质量、情绪功能、社会功能均有提高 (分别为 $P < 0.001$, $P = 0.002$ 和 $P = 0.019$), 疲倦和经济困难指标有所改善 ($P = 0.002$ 和 $P = 0.013$), 但 XELOX 和 FOLFOX-4 化疗方案间的生活质量无明显差异 ($P > 0.05$)。单因素分析表明, 年龄、文化、收入、工作情况、参加集体活动、KPS 评分、浸润深度、淋巴转移、脏器转移、肿瘤大体分型、病理类型、TNM 分期、手术方式及合并器官切除等 14 个因素能进入多因素分析 (P 均 < 0.05)。多因素 Logistic 回归进入主效应模型的自变量是: 淋巴转移、合并器官切除、KPS 评分、手术方式及工作情况。**结论** 联合化疗有助于提高患者的生活质量, 淋巴转移、合并器官切除、KPS 评分、手术方式及患者工作情况对胃癌化疗患者的生活质量影响显著。

关键词 生活质量 辅助化疗 胃肿瘤

QOL of Gastric Cancer Patients Treated with Adjuvant Chemotherapy and Its Influencing Factors. Lin Tiesu, Pan Yuting, Hu Sunkuan, Zhou Qin, Jin Rong. Digestive Internal Medicine Department, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the quality of life (QOL) and the main influencing factors in gastric cancer patients treated with adjuvant chemotherapy. **Methods** Gastric carcinoma patients in First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College from 2007 to 2009 completed the EORTC QLQ-C30 (V 3.0 Chinese) scale at baseline and in the following-up intervals after adjuvant chemotherapy. **Results** Over the time of adjuvant chemotherapy, statistical improvement were seen in a number of domains and items, including global health/QL, emotional function, social function, tiredness and economic difficulties. There was no difference in QL between the XELOX group and FOLFOX-4 group ($P > 0.05$). Univariate analysis indicated that quality of life was related to age, educational background, income, working statement, attending group activity, KPS score, depth of tumor invasion, lymph node metastases, organ metastases,

基金项目: 浙江省科技计划面上科研项目 (2008C33066); 温州市科技计划项目 (H20060026)

作者单位: 325000 温州医学院附属第一医院消化内科 (林铁素、潘钰婷、胡孙宽、周琴); 科教科 (金嵘)

通讯作者: 金嵘, 电子信箱: jinrongjr@163.com

- ization for gas chromatography – mass spectrometry based metabonomic profiling [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 583(2): 277 – 283
 - 5 Levin BE. Arcuate NPY neurons and energy homeostasis in diet – induced obese and resistant rats[J]. *Am J Physiol*, 1999, 276(2): 382 – 387
 - 6 孙晖, 孙文军, 杨昆, 等. 基于临床化学及代谢组学的实验性 2 型糖尿病大鼠模型评价研究[J]. *中国中医药*, 2010, 8(10): 1
 - 7 Jiye A, Trygg J, Gullberg J, *et al.* Extraction and GC/MS analysis of the human blood plasma metabolome [J]. *Anal Chem*, 2005, 77(24): 8086 – 8094
 - 8 Qiu Y, Cai G, Jia W, *et al.* Serum metabolite profiling of human colorectal cancer using GC – TOFMS and UPLC – QTOFMS [J]. *Journal of Proteome Research*, 2009, 8(11): 4844 – 4850
 - 9 Major HJ, Williams R, Wilson AJ, *et al.* A metabonomic analysis of plasma from Zucker rat strains using gas chromatography/mass spectrometry and pattern recognition[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(22): 3295 – 3302
 - 10 Pereira S, Marliss EB, Morais JA, *et al.* Insulin resistance of protein metabolism in type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2008, 57(1): 56 – 63
 - 11 卢红梅, 梁逸曾. 代谢组学分析技术及数据处理技术[J]. *分析测试学报*, 2008, 27(3): 325 – 332
 - 12 袁凯龙, 石先哲, 路鑫, 等. 洛沙坦治疗糖尿病的气相色谱代谢组学 [J]. *中国医学科学院学报*, 2007, 29(6): 719 – 724
- (收稿: 2011 – 08 – 22)
(修回: 2011 – 09 – 15)

高浓度姜黄素对大鼠心室肌细胞瞬时外向钾电流和内向整流钾电流的影响

施 通 吴 辉 刘付丽 杜永均 高元兴 岳 军 徐旭仲

摘 要 **目的** 研究高浓度姜黄素对大鼠心室肌细胞瞬时外向钾电流(I_{to})和内向整流钾电流(I_{kl})的影响。**方法** 采用急性酶解分离法获得大鼠心室肌细胞,以全细胞膜片钳技术记录 I_{to} 和 I_{kl} ,观察 50 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素对 I_{to} 和 I_{kl} 的影响。**结果** 50 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素对 I_{to} 和 I_{kl} 通道电流的抑制率分别是 $(84 \pm 11)\%$ ($P < 0.05$) 和 $(59 \pm 8)\%$ ($P < 0.01$)。它使 I_{to} 和 I_{kl} 通道电流密度 – 电压曲线电流幅度减小,但不改变其整流特性。**结论** 50 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素能明显抑制大鼠心室肌细胞 I_{to} 和 I_{kl} 电流,提示其可能存在心脏毒性作用。

关键词 姜黄素 瞬时外向钾电流 内向整流钾电流 心室肌细胞 心脏毒性 大鼠

Effects of High Concentration Curcumin on Transient Outward Potassium Current and Inward Rectifier Potassium Current in Ventricular Myocytes of Rat. Shi Tong, Wu Hui, Liu Fuli, Du Yongjun, Gao Yuanxing, Yue Jun, Xu Xuzhong. Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To determine the effects of curcumin on transient outward potassium current (I_{to}) and inward rectifier potassium current (I_{kl}) in ventricular myocytes of rats. **Methods** Single ventricular myocytes of rats were obtained by enzymatic dissociation method. Whole – cell patch clamp technique was used to record transient outward potassium current (I_{to}) and inward rectifier potassium current (I_{kl}). The effects of curcumin (50 $\mu\text{mol/L}$) on them were observed. **Results** The inhibition rates of curcumin (50 $\mu\text{mol/L}$) on I_{to} and I_{kl} were $(84 \pm 11)\%$ ($P < 0.05$) and $(59 \pm 8)\%$ ($P < 0.01$) respectively. The current density – voltage curve of I_{to} and I_{kl} was shifted, but their rectifier characteristics were not changed. **Conclusion** Curcumin (50 $\mu\text{mol/L}$) could strongly inhibit the currents of I_{to} and I_{kl} , so it may bring cardiotoxicity.

Key words Curcumin; Transient outward potassium current; Inward rectifier potassium current; Ventricular myocytes; Cardiotoxicity; Rat

姜黄素 (curcumin) 是姜科姜黄属植物姜黄 (*Curcuma longa* L) 的活性成分, 它在 1815 年首次被 Vogel 和 Pelletier 从根茎中提取的一种酚类天然色素,

但直到 1870 年才被 Daube 获得纯晶体姜黄素, 大约 30 年后 Ivanov 和 Gajevsky 才阐明其结构^[1,2]。在传统的印第安医学中它被用以治疗各种各样的疾病, 包括风湿病、躯体疾病、皮肤病、消化功能紊乱、间歇性发热、白斑病和闭经等^[3,4]。最近几年, 大量研究数据阐明了姜黄素非在体条件下的潜在药理学作用, 包括抗微生物、抗病毒、抗真菌、抗炎和抗肿瘤等作用。

作为一种纯天然成分, 姜黄素被美国食品和药物

基金项目: 温州市科技局基金资助项目 (Y20070035)

作者单位: 325000 温州医学院附属第一医院麻醉科 (施通、吴辉、刘付丽、高元兴、岳军、徐旭仲); 325035 温州医学院健康与环境生态研究所 (杜永均)

通讯作者: 吴辉, 电子信箱: wzwuhui@139.com