

to rs- $\kappa$  B, NF- $\kappa$  B)<sup>[6]</sup>,使细胞因子的 mRNA水平升高,大量细胞因子生成。本研究发现,大鼠腹腔巨噬细胞被 LPS激活后,细胞 [Ca<sup>2+</sup>]增高 EMD可降低 [Ca<sup>2+</sup>],使之接近或达到正常水平,进而可能抑制与细胞因子有关的基因的表达,减少炎性介质的产生,抑制过度炎症反应。对于未经 LPS刺激的巨噬细胞,EMD却可升高 [Ca<sup>2+</sup>],促进相关的细胞因子的表达,有利于适度发挥抗炎等免疫防御反应。本研究发现,EMD对正常分泌 IL-1和 IL-6几无影响,这可能是机体在自稳状态下的分泌是相互影响、相互制约的网络式的,IL-1和 IL-6的分泌受多种因素的影响。这一现象可能更有利于机体发挥正常的免疫防御功能。

## 参考文献:

- [1] 毛宝龄. 深入探讨全身炎症反应的失控与调控 [J]. 中华内科杂志, 1997, 36(1): 3-4.
- [2] Demling Rrt, La Londa C, Saldincer D, *et al.* Multiple organ dysfunction in the surgical patient: pathophysiology, prevention and treatment [J]. *Curr Probl Surg*, 1993, 4: 349.
- [3] 祁红. 大黄的抗炎作用 [J]. 中草药, 1999, 30(7): 522-524.
- [4] 李会强, 姚智, 赵瑾莹, 等. IL-2, IL-6及 TNE 的 MTT检测法的建立 [J]. 天津第二医学院学报, 1993, 9(3): 4-6.
- [5] 崔荣芬, 林秀珍. 大黄素对大鼠腹腔巨噬细胞内游离钙离子浓度的影响 [J]. 中草药, 1994, 26(4): 199-200.
- [6] Vanden-Bergh-W, Plainsance-S, Boone-E, *et al.* p38 and extracellular signal-regulated kinase and mitogen-activated protein kinase pathways are required for nuclear factor- $\kappa$ B p36 transactivation mediated by tumor necrosis factor [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(6): 3285-3290.

## 蜕皮甾酮对冠状动脉闭塞致大鼠心肌梗死的有益作用及机制

吴旭<sup>1</sup>, 晋军<sup>2</sup>, 梁自文<sup>3</sup>, 石富胜<sup>4</sup>

(1. 第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所, 重庆 400042; 2. 第三军医大学附属新桥医院 心内科, 重庆 400039; 3. 第三军医大学附属西南医院 内分泌科, 重庆 400038; 4. 中国人民解放军 322医院 烧伤科, 山西大同 037006)

**摘要:**目的 探讨植物药有效成分蜕皮甾酮(ecdyserone, EDS)对心肌梗死有益作用,并探讨其机制。方法 采用冠状动脉左前降支结扎致大鼠心肌梗死模型, ip EDS,连续 7 d 测定血清肌酸磷酸激酶(CPK)、谷草转氨酶(GOT)、乳酸脱氢酶(LDH)活性、心肌梗死面积、冠状动脉血流量、毛细血管密度及血管内皮生长因子(VEGF)的表达量。结果 0.5, 5, 50 mg/kg EDS能剂量依赖地影响大鼠血清 CPK、GOT、LDH活性,以 5 mg/kg 剂量的 EDS降低心肌酶谱为最佳。5 mg/kg EDS能明显减少心肌梗死面积,增加冠状动脉血流量、毛细血管密度和 VEGF表达量。结论 EDS能减轻冠状动脉结扎致心肌梗死,机制在于促进 VEGF的表达和毛细血管再生及增加冠状动脉血流量。

**关键词:** 蜕皮甾酮;心肌梗死;冠状动脉;血管内皮生长因子

中图分类号: R285.5; R286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)08-0721-03

## Beneficial effect of ecdysterone on rat myocardial infarction induced by coronary occlusion

WU Xu<sup>1</sup>, JIN Jun<sup>2</sup>, LIANG Zi-wen<sup>3</sup>, SHI Fu-sheng<sup>4</sup>

(1. Institute of Field Surgery, Affiliated DAPING Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China; 2. Department of Cardiology, Affiliated XIN QIAO Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400039, China; 3. Department of Endocrinology, Affiliated Southwestern Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 4. Department of Burn, No. 322 Hospital, PLA, Datong Shanxi 037006, China)

**Abstract Object** To explore the beneficial effect of phytoecdysone (EDS) on myocardial infarction and its mechanism of action. **Methods** Rat myocardial infarction model was prepared by ligating the left anterior descending coronary artery, and EDS was injected ip for seven consecutive days. Serum creatine phosphokinase (CPK) glutamic-oxalacetic transaminase (GOT), lactic dehydrogenase (LDH) activities, infarct size (IS), coronary blood flow, capillary vessel density and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression were determined. **Results** 0.5, 5, and 50 mg/kg of phytoecdysone were able to ef-

收稿日期: 2001-01-05

作者简介: 吴旭(1967-),男,云南绥江县人,第三军医大学大坪医院野战外科研究所副教授,医学硕士,从事内皮细胞相关的心肺脑血管疾病的研究。发表论文 39篇,获国家发明专利 1项。现在第一军医大学南方医院胸外科工作(广东省广州市),邮编: 510515, E-mail wuxu555888@china.com

fect the activities of serum CPK, GOT, LDH in a dose depending manner with an optimal effect for improving cardiac zymogram at the dose of 5 mg/kg ip. At this dosage EDS can markedly reduce IS, increase coronary blood flow, capillary vessel density and the expression of VEGF. **Conclusion** ESD can alleviate myocardial infarction symptoms. The mechanism of such beneficial effect may due to its ability to promote VEGF expression regeneration of capillary vessels and increase coronary blood flow.

**Key words** phytoecdysone; myocardial infarction; coronary artery; vesicular endothelial growth factor

蜕皮甾酮 (ecdysterone, EDS) 是一种植物药有效成分, 也被称为昆虫变态激素<sup>[1]</sup>。活血化瘀中药牛膝富含 EDS, 有文献报道怀牛膝可扩张蛙的血管<sup>[2]</sup>, 故推测 EDS 可改善心肌缺血。还有研究表明 EDS 能促进血管内皮增殖<sup>[3]</sup>, 故推测 EDS 可能促进心肌梗死区的再血管化。本研究探讨 EDS 是否对梗死心肌损伤有益, 并从内皮细胞的角度探讨其机制。

## 1 材料

1.1 药物和试剂: 蜕皮甾酮 (ecdysterone, EDS) 单体, 由中国科学院昆明植物研究所提供, 纯度为 99.9%。硝基四氮唑蓝 (N-BT) (Sigma, USA), 氢气清除式组织血流量分析系统 (日本光电株式会社, 日本), VIII 因子相关抗原抗体 (中山公司, 北京), VEGF 抗体 (Sigam, USA), 图像分析系统 (Bio-Rad, USA), 其它试剂为国产分析纯。

1.2 动物: Wistar 大鼠, 购自第三军医大学动物中心 (动物合格证号: 医动字第 310201001 号), 体重 (300±50) g, 雌雄不拘。

## 2 方法

2.1 心肌梗死模型: 参照文献<sup>[4]</sup>略加改进。大鼠以戊巴妥麻醉, 气管插管, 人工呼吸。距冠脉出口 5 mm 处结扎冠状动脉左前降支 (LAD), 造成闭塞冠脉区的心肌梗死。

2.2 实验分组: Wistar 大鼠分为 (1) 手术对照组 (假手术组): 冠状动脉 LAD 处穿一丝线, 但不结扎; (2) 损伤对照组: 结扎冠状动脉 LAD, 造成心肌梗死; (3) 溶剂对照组: 损伤时 ip 5% 乙醇溶液 1 mL/kg; (4) 药物组: 分为 3 个剂量组, 损伤时 ip EDS 0.5, 5, 50 mg/kg, 每天 1 次, 连续 7 d。

2.3 指标检测: 实验至第 7 天, 麻醉大鼠, 开胸, 将铂金电极在距冠状动脉前降支根部 3 mm 处插入左心室内 5 mm 达心内膜下, 以氢气清除法测定心肌冠状动脉血流量。之后断头处死大鼠, 取血 3 mL 分离血清, 按常规测定 LDH, GOT 及 CPK 活性。取血后每组迅速取出心脏, 一半标本 (6 只大鼠) 立即采用硝基四氮唑蓝 (N-BT) 染色法测定心肌梗死区

面积 (梗死面积百分率 = 心肌梗死区面积 / 心肌总面积 × %); 另一半标本 (6 只大鼠) 取梗死与非梗死交界处心肌组织 4 mm × 5 mm 大小 4% 多聚甲醛固定, 液氮中速冻 2 h, 冰冻切片后以 VIII 因子相关抗原抗体免疫组化法, 按 Weidner<sup>[5]</sup> 的方法计数切片中内皮细胞团、内皮细胞条索等结构, 以其占心肌组织的百分比表示毛细血管密度, 光镜下定性、定位, 并进行图像分析仪测定毛细血管密度 (%); VEGF 抗体免疫组化标记血管 VEGF, 图像分析仪测定 VEGF 的表达量 (灰度值, 与 VEGF 的阳性强度正相关)。

2.4 统计处理: 采用组间 *t* 检验, 以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 3 结果

3.1 EDS 对蜕皮甾酮对心肌梗死大鼠血清心肌酶谱的影响: 从表 1 中可见, 损伤组与手术对照组相比, LDH, GOT 及 CPK 活性非常明显升高 ( $P < 0.01$ )。溶剂对照组与损伤组无显著差别。药物组的作用与剂量相关: EDS 在 0.5, 5 mg/kg 时, 与损伤组相比 LDH, GOT 及 CPK 活性均非常明显减少 ( $P < 0.01$ ), 与手术对照组相比仍明显升高 ( $P < 0.01$ ); EDS 在 50 mg/kg 时, 与损伤组相比 LDH, GOT 及 CPK 活性反而明显升高 ( $P < 0.05$ )。结果提示: EDS 对梗死心肌的作用有量效关系: 0.5, 5 mg/kg EDS 能减少心肌酶谱的释放, 并且以 5 mg/kg 作用为最佳。

3.2 5 mg/kg EDS 对心肌梗死大鼠梗死面积 (IS)、冠脉血流量 (CAF)、毛细血管密度 (CVD)、血管内皮生长因子 (VEGF) 表达量的影响: 由表 2 可见 EDS 组与损伤对照组相比, IS 非常显著减少, CAF 非常显著增加, CVD 非常显著增加, VEGF 的灰度值非常显著减少。

## 4 讨论

EDS 首先被发现存在于昆虫体内, 有促进昆虫生长代谢的作用, 被称为昆虫变态激素<sup>[1]</sup>; 以后又发现其广泛存在于植物中, 尤其是许多中药如怀牛膝、川牛膝、桑叶、白毛夏枯草、泽泻、罗汉松、紫杉、乌毛

表 1 EDS对大鼠血清 LDH GOT CPK 活性的影响 (n= 12)

组别	剂量 (mg/kg)	LDH (mmol/L <sup>o</sup> s)	GOT (mmol/L <sup>o</sup> s)	CPK (mmol/L <sup>o</sup> s)
手术	-	0.84± 0.15*	1.4± 0.17*	2.88± 0.53
损伤	-	2.47± 0.39	3.3± 0.46	6.54± 1.06
溶剂	-	2.56± 0.45	3.38± 0.49	6.74± 1.07
EDS	0.5	1.9± 0.32*△△	2.23± 0.31*△△	3.75± 0.66*△△
	5	1.14± 0.17*	1.5± 0.25*	3.09± 0.60*
	50	3.06± 0.55△△	3.96± 0.61△△	7.58± 1.28△△

与损伤组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01; 与 5 mg/kg EDS比较: △△ P < 0.01

表 2 EDS对大鼠心肌 IS CAF CVD VEGF 的影响

组别	IS(%) (n= 6)	CAF(mL/100g <sup>o</sup> min) (n= 12)	CV D(%) (n= 6)	VEGF(灰度值) (n= 6)
损伤	8.56± 1.14	29.7± 3.14	0.83± 0.09	21.72± 2.45
EDS	5.85± 0.63*	41.8± 4.36*	1.25± 0.14*	16.68± 1.72*

与损伤组比较: \*\* P < 0.01

蕨、祁州漏芦等都含有类似物。活血化瘀中药怀牛膝富含昆虫变态激素,并且文献报道怀牛膝的醇溶液可扩张蛙的血管<sup>[2]</sup>。由此推测 EDS可能改善心肌缺血。本研究结果证实: 5 mg/kg EDS可增加心肌梗死后的冠状动脉血流量。结果还显示: 应用 EDS后, 心肌梗死面积减少,改善了心肌损伤的酶谱。提示 EDS可减轻冠状动脉闭塞所致心肌缺血性损伤,减少心肌梗死的面积,减少心肌酶谱释放,增加冠状动脉血流量,产生有益作用。实验进一步观察到: 在 EDS 的作用下,梗死区的毛细血管增多,心肌 VEGF 的表达增加。有研究表明 EDS能促进血管内皮细胞增殖<sup>[3]</sup>,因此推测 EDS对心肌梗死的有益作用可能是通过血管内皮细胞途径,促进梗死心肌的再血管化而发挥作用; EDS促进 VEGF 的表达可能是 EDS有益作用的分子机制。本实验的结论与其它结果不同,尚属国内外首次报道。国外的研究提示 EDS对冠状动脉结扎所致心肌损伤的作用机制可能在于 EDS 的膜稳定作用和提高心肌的适应能力<sup>[6]</sup>。因此,本研究不仅证实了 EDS用于治疗心肌

梗死等缺血性心脏病的可能性,而且揭示了 EDS促进 VEGF 表达的作用。VEGF 的主要作用是促进毛细血管生成,增加心肌的毛细血管密度,最终形成新的侧枝循环,重建缺血性心肌的冠状动脉血供。因此本研究发现 EDS促进 VEGF 表达的作用,无疑为缺血性心脏病的治疗提供了新的途径

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1997.  
 [2] 王筠默. 怀牛膝的药理研究 [J]. 上海中医药杂志, 1965, 15 (3): 31-34.  
 [3] 吴旭, 林水金, 杨映波, 等. 蜕皮甾酮对人脐静脉内皮细胞增殖的影响 [J]. 中国药理学通报, 1998, 13(2): 176-179.  
 [4] 邓汉武. 大鼠心肌缺血再灌注损伤实验法 [J]. 中国药理学通报, 1989, 5(5): 317-319.  
 [5] Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer [J]. Am J Pathol, 1995, 147(1): 9-15.  
 [6] Kumukov A G, Emishina O A. Effect of ecdysterone on experimental arrhythmias, changes in the hemodynamic and contractility of the myocardium produced by coronary occlusion [J]. Farmakologiya I Toksikologiya (Moscow), 1991, 54(1): 27-29.

欢迎订阅《中国中药杂志》

《中国中药杂志》(CHINA JOURNAL OF CHINESE MATERIA MEDICA)系中国科学技术协会主管、中国药学会主办、中国中医研究院中药研究所承办的综合性学术型中药刊物,月刊,国内外公开发行人。为中国现存创刊最早、发行量最大的中药学学术性刊物,系中国自然科学核心期刊。本刊自 2002 年第 1 期起由 2001 年的 72 版扩增至 80 版,每期定价 10.00 元,全年定价 120.00 元。全国各地邮局均可订阅,邮发代号 2-45,国内统一刊号 CN 11-2272/R; 国外代号 M 399,国际标准刊号 ISSN 1001-5302 本刊联系电话: (010) 6404-5830 汇款请寄: 北京市东直门内北新仓 18 号《中国中药杂志》社, 邮政编码 100700