

沙棘籽油对大鼠急性缺血性脑梗死的保护作用

程体娟¹, 王玉斌², 高丽萍¹, 孙以方¹, 张 坚¹

(1. 兰州医学院, 甘肃 兰州 730000;

2. 甘肃省人民医院 影像诊断中心, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] 目的:旨在探讨沙棘籽油对大鼠急性缺血性脑梗死的保护作用。方法:采用大脑中动脉(MCA)阻断术制作大鼠缺血性脑梗死模型,观察药物对脑梗死大鼠脑梗死体积和行为障碍的影响。结果:沙棘籽油大剂量($0.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和小剂量($0.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)均能明显改善 MCA 阻断大鼠的行为障碍,并能减少脑梗死范围。结论:沙棘籽油对大鼠急性缺血性脑梗死具有明显的保护作用。

[关键词] 沙棘籽油; 大脑中动脉阻断术(MCAO); 脑梗死; 核磁共振成像(MRI)

[中图分类号] R 285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5302(2003)06-0548-03

脑梗死属于中医学“中风”、“卒中”等病的范畴。该病死亡率高,致残率高。近年来由于防治高血压病,出血性脑中风有所下降,而缺血性脑中风却有所增加。目前对此病仍无很好的治疗方法,药物治疗效果也不够令人满意,因此寻找和开发防治缺血性脑中风的药物受到极大的重视。

沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 系胡颓子科沙棘属植物,含有对人体有益的多种生物活性物质。从沙棘种子中提取的沙棘籽油含有胡萝卜素、类胡萝卜素、谷甾醇及维生素 E 等,能治疗多种疾病。李雅茹等报道^[1]沙棘籽油胶囊可治疗缺血性中风,总有效率达到 76.67%,但动物实验结果国内外尚未见报道。本文采用大脑中动脉阻断术(MCAO)造成大鼠急性缺血性脑梗死,用核磁共振成像仪进行脑梗死体积测定,并用行为学评分等指标进行研究,旨在探讨沙棘籽油对缺血性脑梗死的影响,以便为开发新药提供理论依据。

1 材料

1.1 药品及试剂

沙棘籽油购自陕西艾康沙棘制药有限公司,将沙棘籽油置乳钵中,加入吐温 80 (2%) 研磨,制成乳剂备用。尼莫地平:浙江正大青春宝药业有限公司产品,规格:每片 20 mg,批号 970805。络欣通:

山西瑞福莱药业有限公司产品,规格:每片 500 mg (按生药量计),批号 990601449。

1.2 动物

Wistar 大鼠,雄性, (274 ± 28) g,由甘肃省医学科学研究院动物中心提供,大鼠合格证号:医动字第 14-008 号。

1.3 仪器

GYREXV-DIX 超导型 0.5 Tesla (T) 核磁医用诊断仪(以色列 Elscint 公司产品)。

2 实验方法

2.1 沙棘籽油对大鼠缺血性脑梗死的影响

2.1.1 急性缺血性脑梗死动物模型的制作^[2] 采用大脑中动脉阻断术(MCAO)制作动物模型,用 7% 水合氯醛 ip 麻醉大鼠,将动物固定,使其右侧面部朝上,剃毛消毒后,在右眼与右耳中点作一长约 1.5 cm 的垂直弧形切口,切口颞肌并向嘴侧翻起,在颞弓与颞鳞骨结合处的前端 2 mm 处用牙科钻作一直径约 4 mm 的骨窗,暴露大脑中动脉(MCA),将其轻轻挑起后,电凝阻断位于嗅束内 1~2 mm 至大脑下静脉处的一段,阻断血管逐层缝合颞肌及皮肤,待动物苏醒后放回鼠笼。假手术组按上述步骤进行,但不凝闭 MCA。

2.1.2 动物分组及给药 将 Wistar 大鼠随机分为 6 组:假手术组(NS 等容量),模型组(吐温 80 等容量),尼莫地平组($0.001 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),络欣通组($0.135 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),沙棘籽油(大)组($0.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和沙棘籽油(小)组($0.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。各组动物均于手术前和手

[收稿日期] 2002-02-21

[基金项目] 甘肃省自然科学基金资助项目(ZR-97-101)

[通讯作者] Tel: (0931) 8615389 E-mail: litjian@public.lz.gs.cn

术后给药 3 d, 均 ig 给药, 每天 2 次。

2.1.3 行为学观察及评分标准 阻断大脑中动脉后 24, 48, 72 h 进行行为学观察, 然后进行评分。评分标准^[3, 4]: 提鼠尾, 左前肢内收, 左肩内旋者为 1 ~ 4 分; 将大鼠置光滑平面, 推右肩向左侧移动, 阻力降低者为 1 ~ 3 分; 左前肢肌张力降低为 1 ~ 3 分。总分共 10 分。分数越高, 动物的行为障碍越严重。为避免主观因素干扰, 评分严格采用盲法。

2.1.4 脑梗死体积的测定^[5] 术后 72 h 评分结束后, 用核磁共振成像仪(MRI)进行脑梗死体积测定。MRI 对组织含水量的轻微增减有显著的敏感性, 局部组织含水量稍有增加, MRI 信号均可发生明显的变化, 在脑梗死时, 脑组织发生水肿, 因此, MRI 能对脑梗死作出早期诊断。具体作法如下: 将大鼠用 7% 水合氯醛 ip 麻醉后, 俯卧位固定, 采用人体眼眶表面线圈, 自旋回波脉冲序列扫描(SE), 先取矢状方位定位, 中心为双耳连线, 设置 T1 及 T2 加权, T1 加权参数为 TE = 20 ms, TR = 400 ms, Fov = 18 cm × 18 cm, T2 加权参数为 TE = 80 ms, TR = 3 500 ms, Fov = 24 cm × 24 cm, 3 次采集信号, 矩阵 256 ×

256, 层厚 4 mm, 间距 0.8 mm, 部分大鼠扫描矢状位及冠状位 T1 加权图象。用计算机光标详细测量脑梗死的面积, 再乘以层厚加间距, 即为该脑片脑梗死的体积, 将所有脑片梗死的体积相加, 得出脑梗死的体积。同样用光标详细测量大鼠全脑体积, 最后计算出脑梗死的体积占全脑体积的百分比。

2.2 统计方法

实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用孙瑞元新药统计程序 NDST 软件 t 检验分析结果。

3 结果

3.1 对缺血性脑梗死大鼠行为的影响

除假手术组大鼠未出现任何神经病学征象外, 其余各组大鼠均出现程度不同的神经病学征象。表现为精神萎靡, 左前肢内收, 躯体向病灶对侧倾斜, 向左侧推阻力下降, 此外, 部分大鼠活动时向瘫痪侧打转现象。与假手术组比较, 模型组动物出现严重的行为障碍。与模型组比较, 尼莫地平, 络欣通和沙棘籽油大、小剂量组大鼠的行为症状评分均有所降低。结果见表 1。

3.2 对大鼠脑梗死体积的影响

表 1 沙棘籽油对大脑中动脉阻断大鼠行为学评分影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量/ $g \cdot kg^{-1}$ | 动物数 | 24h 分值 | 48h 分值 | 72h 分值 |
|---------|-----------------------|-----|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 假手术组 | | 8 | 0 | 0 | 0 |
| 模型组 | | 8 | 6.50 ± 1.69 ³⁾ | 6.00 ± 1.07 ³⁾ | 5.38 ± 0.92 ³⁾ |
| 尼莫地平 | 0.001 | 8 | 3.63 ± 1.41 ²⁾ | 3.25 ± 1.28 ²⁾ | 2.88 ± 0.84 ²⁾ |
| 络欣通 | 0.135 | 11 | 4.55 ± 1.29 | 3.70 ± 1.06 ²⁾ | 3.30 ± 1.16 ²⁾ |
| 沙棘籽油(大) | 0.700 | 8 | 4.00 ± 1.41 ²⁾ | 3.50 ± 0.93 ²⁾ | 3.00 ± 0.93 ²⁾ |
| 沙棘籽油(小) | 0.350 | 9 | 4.78 ± 1.56 ¹⁾ | 3.88 ± 0.99 ²⁾ | 3.75 ± 0.89 ²⁾ |

注: 与模型组比较 ¹⁾ $P < 0.05$ ²⁾ $P < 0.01$ 与假手术组比较 ³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)

结果见表 2, 与假手术组比较, 模型组大鼠出现严重的脑梗死, 梗死体积百分率为 33.91 ± 7.55 , 与模型组比较, 尼莫地平, 络欣通和沙棘籽油大、小剂量组大鼠脑梗死体积明显降低($P < 0.01$)。

表 2 对大鼠脑梗死体积的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量/ $g \cdot kg^{-1}$ | 动物数 | 梗死体积百分率 | 梗死体积减少百分率 |
|---------|-----------------------|-----|----------------------------|-----------|
| 假手术组 | | 8 | | |
| 模型组 | | 8 | 33.91 ± 7.55 ³⁾ | |
| 尼莫地平 | 0.001 | 8 | 20.79 ± 4.67 ²⁾ | 38.7 |
| 络欣通 | 0.135 | 11 | 20.42 ± 3.27 ²⁾ | 39.8 |
| 沙棘籽油(大) | 0.700 | 8 | 21.40 ± 3.58 ²⁾ | 36.9 |
| 沙棘籽油(小) | 0.350 | 9 | 18.21 ± 1.37 ²⁾ | 46.3 |

4 讨论

急性脑血管病是人类严重致残和死亡的重要原因之一, 在我国居各类死因的第二位。为了弄清缺血性卒中的演变过程和药物疗效观察, 制作最接近人类脑梗死的理想的动物模型, 是脑血管病研究的重要课题^[6]。脑梗死多发生在大脑动脉的一支, 尤以大脑中动脉最为常见, 故以阻断大鼠大脑中动脉形成的局灶性脑缺血模型, 比较接近于临床^[7]。

另一技术关键为脑梗死体积的定量测定, 测定脑梗死体积常用方法有图象分析法和求积仪法。图象分析仪测定脑梗死体积较为准确, 但使用方法繁琐, 求积仪法灵敏度低, 不适合测小面积, 求积仪法测量时, 必须先将脑片照相放大, 每张放大照片需测

定数次求平均值,每只鼠脑要重复近百次才能得到较为准确的结果,对于大批实验而言工作量很大。而磁共振成像(MRI)是利用在强磁场中组织内的质子与射频脉冲相互作用产生共振而达到成像目的的一项新技术,其优点为影像清晰,定位精确,操作简单,对脑无损伤。它克服了图象分析法法和求积仪法的缺点。用 MRI 测定大鼠脑梗死体积国外仅有个别报道^[5],国内尚未见报道。本文采用 MCAO 制作大鼠缺血性脑梗死模型,并采用测定脑梗死体积最为先进的 MRI 测定脑梗死体积,结果表明尼莫地平、络欣通和沙棘籽油大、小剂量均可明显地减少 MCAO 所致大鼠脑梗死范围,同时还观察到以上药物均可改善脑梗死大鼠的行为障碍。结果提示:沙棘籽油大剂量和小剂量均对大鼠缺血性脑梗死具有明显防治作用,其作用与尼莫地平和络欣通相当。其作用机理有待进一步探讨。

[参考文献]

- [1] 李雅茹,王丽英. 沙棘油胶囊,沙棘塞脉通胶囊治疗缺血性中风临床疗效初步分析. 沙棘, 1994, 7(2): 45.
- [2] Tamura A, Graham D I, McCulloch J, et al. Focal Cerebral Ischemia in the Rat: 1. Description of Technique and Early Nearopathological Consequences Following Middle Cerebral Artery Occlusion. J Cereb Blood Flow Metab, 1981, (1): 53.
- [3] Bederson J B, Pitts L H, Tsuji M, et al. Rat Middle Cerebral Artery Occlusion: Evaluation of the Model and Development of a Neurologic Examination. Stroke, 1986, 17(3): 472.
- [4] 刘小光,冯亦璞. 丁基苯酚对局部脑缺血行为和病理改变的保护作用. 药理学报, 1995, 30(12): 896.
- [5] Bradley R H, Kent T A, Eisenberg H M, et al. Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats Studied by Magnetic Resonance Imaging. Stroke, 1989, 20(8): 1032.
- [6] 陈富春综述,郭述苏审校. 大鼠局灶性脑缺血模型的研究进展. 国外医学·脑血管疾病分册, 1995, (5): 227.
- [7] 周庆宇,徐为人,魏月芳. 利脑心胶囊对大鼠实验性脑梗塞及小鼠脑缺血后能量代谢的改善作用. 中草药, 1996, 27(3): 157.

The Protection of Seed Oil of *Hippophae rhamnoides* on Ischemic Cerebral Infarction in Rats

CHENG Ti-juan¹, WANG Yu-bin², GAO Li-ping¹, SUN Yi-fang¹, ZHANG Jian¹

(1. Lanzhou Medical College, Lanzhou 730000, Ganshu, China;

2. People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, Ganshu, China)

[Abstract] Objective: To study the protection of seed oil of *Hippophae rhamnoides* on ischemic cerebral infarction in rats and the mechanism of the action. **Method:** Focal cerebral ischemia model was made by middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats. Behavior obstacles of rats were observed. Cerebral infarction volume was determined by Magnetic Resonance Imaging (MRI). **Result:** Seed oil of *Hippophae rhamnoides* 0.7 and 0.35 g·kg⁻¹ could markedly reduce infarction volume after occlusion of middle cerebral artery in rats and also could ameliorate the behavior obstacles of rats. **Conclusion:** These results suggested that seed oil of *Hippophae rhamnoides* had distinct protection to ischemic cerebral infarction in rats.

[Key words] seed oil *Hippophae rhamnoides*; middle cerebral artery occlusion (MCAO); cerebral infarction; magnetic resonance imaging (MRI)