

五加苷对大鼠脑梗死的保护作用

刘向前^{1,2*}, 邹亲朋², 冯 胜², 郑礼胜², 陆昌洙³

1 湖南中医药大学 药学院, 湖南 长沙 410208

2 中南大学 制药工程系, 湖南 长沙 410083

3 庆熙大学 药学院 生药学研究室, 韩国 首尔 130-701

摘 要 **目的:** 研究五加苷对大鼠局灶性脑梗死的防治及对脑缺血模型大鼠脑梗死灶体积的影响。**方法:** 对局灶性脑梗死的防治, 采用栓线法造模, 检测各组大鼠脑组织含水量, 并观察脑组织形态学变化; 对脑缺血模型大鼠脑梗死灶体积影响的研究, 依据 Zea-Longa 栓线法造模, 治疗组以五加苷 ig, 对照组用生理盐水代替五加苷, Swanson 法测定脑梗死灶体积, 并观察脑组织形态学变化。**结果:** 经五加苷治疗的局灶性脑梗死大鼠的脑含水量降低, 光学显微镜下观察脑组织形态学有明显改善; 经五加苷治疗的脑缺血模型大鼠脑梗死灶体积显著降低。**结论:** 五加苷对脑梗死大鼠有明显脑保护作用。

关键词 五加苷; 局灶性脑梗死; 脑梗死灶体积

中图分类号: R743.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2010) 02-0095-03

Effect of acankoreoside A on prevention and treatment of focal cerebral infarction of rats

LIU Xiang-qian^{1,2}, ZOU Qin-peng², FENG Sheng², ZHENG Li-sheng², YOOK Chang-soo³

1 College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2 Department of Pharmaceutical Engineering, Central South University, Changsha, 410083, China;

3 Department of Pharmacognosy, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, 1 Hoeki-Dong, Dongdaemoon-ku, Seoul 130-701, Korea

Abstract **Objective:** To study the prevention and treatment of cerebral infarction in rats using acankoreoside A, and the effect of acankoreoside A on cerebral infarction volume in focal cerebral ischemia rat model. **Methods:** For the research of the prevention and treatment of focal cerebral infarction, the models of the focal cerebral infarction of the rats were made by putting the special thread to the internal carotid artery. The water content in the rats' brain was detected, and the brain morphological changes were observed. For the study of the effect of acankoreoside A on cerebral infarction volume in focal cerebral ischemia rat model, the models of the focal cerebral infarction rats of the treated group and normal group were made according to Zea-Longa modeling filament method. The treated group rats were administrated with acankoreoside A and the normal group rats with normal saline. The cerebral infarction volumes were determined by Swanson method and the brain morphological changes were observed. **Results:** The results show that that the water content in the focal cerebral infarction rats' brain is significantly reduced, brain morphology is obviously improved though optical microscope observation, and cerebral ischemia infarct volume of focal cerebral ischemia rats is distinctly lower after treated with acankoreoside A. **Conclusion:** Acankoreoside A has significantly protective effect on cerebral infarction in rats.

Key words acankoreoside A; focal cerebral infarction; cerebral ischemia infarct volume

脑梗死又名缺血性脑血管病, 是一种由于脑血管内发生血栓、栓塞或其他原因导致脑供血不足而

引起的疾病。我国脑血管疾病死亡率为全世界第 7 位, 而幸存者中约有 3/4 不同程度丧失劳动能力,

收稿日期: 2010-02-24-

基金项目: 教育部留学回国人员科研启动基金 (教外司留[2005]55 号); 湖南省教育厅中药学重点学科和湖南中医药大学十一五校级重点学科中药化学与分析资助。

* 通讯作者 刘向前, 男, 教授, 研究方向: 中药和天然产物的活性成分研究, 联系电话: +86-731-88995848, E-mail: lxq0001cn@163.com

度致残率达 40% 以上, 其中脑梗死约占脑血管疾病发病率的 75%, 所以该类疾病的防治受到极大重视^[1]。五加苷是从细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith 中获得的一种羽扇豆烷型三萜化合物, 命名为 acankoreoside A, 前期药理研究表明其具有一定抗炎、抗排异、抗应激等作用^[2-5]。本研究观察五加苷对大鼠局灶性脑梗死的防治及对脑缺血模型大鼠脑梗死灶体积的影响, 为开发临床防治局灶性脑梗死的药物提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

健康成年 Wistar 大鼠 50 只, 体质量 200~250 g, 雌雄各半; 成年雄性 Wistar 大鼠 30 只, 体质量 (280±20) g, 均由韩国庆熙大学药学院提供。

1.2 供试品、对照药与试剂

五加苷, 由韩国庆熙大学药学院生药学研究室分离纯化制备, HPLC 测定质量分数≥98%; 羧甲基纤维素钠、戊巴比妥钠等均为满足药理实验要求的药品。

2 方法

2.1 五加苷对大鼠局灶性脑梗死的防治作用

2.1.1 分组及给药

50 只健康成年 Wistar 大鼠随机分成 5 组, 分别为正常组, 模型组, 五加苷大 (100 mg/kg)、中 (50 mg/kg)、小 (30 mg/kg) 剂量组, 每组 10 只。取五加苷 0.5% 羧甲基纤维素钠, 配成相应浓度, 分别给大、中、小剂量组动物 ig, 每日 ig 2 次, 每次为剂量的一半, 持续 1 周。正常对照组和模型组动物给予自由饮食。

2.1.2 造模

1 周后, 五加苷大、中、小剂量组及模型组禁食 24 h, 自由饮水, 使用栓线法造模。栓线选用日本产的高碳素钓鱼线, 直径为 0.20~0.25 mm, 长度 40~50 mm, 前端 20 mm 处作标记, 并将前端在解剖镜下灼成球体后置肝素中浸泡备用。大鼠用 2% 的戊巴比妥钠 (40 mg/kg) ip 麻醉, 仰卧位固定, 将制备好的栓线插入颈总动脉送入颈内动脉直至大脑中动脉的起始处, 停止插线, 固定插线在血管外的部分, 缝合浅筋膜和皮肤。等动物苏醒后出现明显偏瘫症状, 身体倾斜, 爬行旋转。

2.1.3 指标检测

处死各组大鼠, 取左前脑 100~150 mg 称重后

105 °C 恒温箱烘干至恒重, 即为干质量, 采用公式 脑含水量 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量 × 100% 计算脑含水量。取脑组织于视交叉至脚同窝冠状面甲醛固定, HE 染色法染色, 光学显微镜观察组织学变化。

2.2 五加苷对脑缺血模型大鼠脑梗死灶体积的影响

2.2.1 动物分组与造模

30 只成年雄性 Wistar 大鼠随机分为假手术组、治疗组、对照组 3 组, 每组 10 只。各组动物均施行手术, 除假手术组仅做颈前切开, 分离颈外动脉, 其余 2 组大鼠依据 Zea-Longa 栓线法阻断脑中动脉以制作局灶性缺血再灌注模型。

2.2.2 给药

治疗组以五加苷 ig, 每次 50 mg/kg, 每天 2 次, 连续 2 d, 然后进行缺血再灌注, 术后继续 ig, 每次 50 mg/kg, 每天 2 次, 缺血再灌注 48 h 后麻醉大鼠取材; 对照组用生理盐水代替五加苷, 给药方法与时间和治疗组相同。

2.2.3 组织切片制备

治疗组与对照组再灌注 48 h 后与假手术组一起再次麻醉, 经左心室穿刺主动脉插管, 肝素生理盐水 100 mL 冲洗, 4% 多聚甲醛磷酸盐缓冲液 (4 °C, pH 7.0) 注入约 400 mL。取脑浸入固定液中后固定, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 常规石蜡包埋, 经顶部行冠状位连续切片, 片厚 6 μm。

2.2.4 脑梗死灶体积测定

参照 Swanson 法测定脑梗死灶体积。取连续 8 张脑组织冠状切片, 常规脱蜡水化后置于 2% 红四氮唑 (TTC) 生理盐水中, 在 37 °C 恒温避光孵育 30 min, 进行组化染色, 可见正常脑组织呈深橙色, 梗死区未被染色而呈白色, 根据苍白区观察梗死灶范围。先用扫描仪将图像扫入 LUZEX-F 型图像分析仪分析测量脑梗死面积, 再按梯形法则计算脑梗死灶体积。

2.3 统计学处理

实验数据采用 SPSS10.0 统计软件处理。组间样本均数比较采用 *t* 检验 (双侧)。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 五加苷对大鼠局灶性脑梗死的防治作用

3.1.1 各组大鼠脑含水量的测定

各组大鼠脑含水量的测定结果如表 1 所示。模

型组大鼠脑含水量与正常组相比明显增加 ($P<0.01$); 五加苷组的脑含水量与模型组比较明显降低 ($P<0.01$); 五加苷大、中剂量组与五加苷小剂量相比, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。

3.1.2 脑组织细胞形态学变化

正常组: 大鼠脑组织内神经元轮廓清晰, 多呈锥形、星形、梭形; 细胞周围有狭带状亮区, 细胞核大而圆, 着色较深, 位于细胞中央, 偶见嗜酸性核仁。模型组: 动物的脑组织可见水肿现象。水肿主要发生在梗死区的皮质层, 神经元轮廓模糊, 细胞周围间隙明显增大, 血管周围间隙明显增宽, 胞体着色变浅, 胞核浓缩, 甚至核溶解, 胞质分界不清, 可见明显的软化灶及粒细胞的浸润。五加苷组与模型组比较有明显的好转, 且这种变化与药物剂量呈正相关。五加苷大剂量组与正常组无明显差异, 表现为神经元细胞形态规则, 细胞核大深染, 细胞间排列较整齐, 界限较清楚。五加苷小剂量组与正常组有明显差异, 与模型组无明显差异。

表 1 各组大鼠脑含水量的比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 1 Compare of water content in the rats' brain of each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	脑含水量/%
正常组	—	78.32±1.15
模型组	—	90.37±4.24 ^{##}
五加苷小剂量组	30	90.13±2.56 ^{**}
五加苷中剂量组	50	87.13±3.67 ^{*#Δ}
五加苷大剂量组	100	86.93±2.14 ^{*#Δ}

与正常组比较: [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$; 与五加苷小剂量组比较: ^Δ $P<0.05$ 。

[#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ vs normal group; ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ vs model group; ^Δ $P<0.05$ vs group acankoreoside A with the small dosage

3.2 五加苷对脑缺血模型大鼠脑梗死灶体积的影响

各组大鼠脑梗死灶体积结果见表 2。由实验结果可知, 假手术组未出现脑梗死现象; 治疗组的脑梗死体积与对照组相比明显降低, 两组间差异具有统

表 2 各组大鼠脑梗死灶体积比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Compare of the rats' cerebral infarction volume of each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	脑梗死体积/mm ³
假手术组	0.00±0.00
模型组	309.78±49.67
治疗组	184.36±20.36 [*]

与模型组比较^{*} $P<0.01$

^{*} $P<0.01$ vs model group

计学意义 ($P<0.01$)。

4 讨论

急性脑缺血可导致脑水肿。脑水肿是导致脑缺血病人致死、致残的主要原因。本文结果显示应用五加苷各组动物脑水肿明显减轻, 血脑屏障的通透性改善, 大脑局部血流量显著增加。脑组织细胞形态观察表明, 五加苷对脑缺血性损伤具有明显改善作用; 可以显著减小模型大鼠的脑梗死体积。结果表明五加苷对局灶性脑梗死具有一定的脑保护作用。

参考文献:

- [1] 罗祖明. 脑血管疾病治疗学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999.
- [2] 倪娜. 细柱五加叶及其同属植物活性成分研究[D]. 长沙: 中南大学制药工程系, 2008.
- [3] 刘向前, Chang S Y, Yook C S. 细柱五加叶中羽扇豆烷型三萜成分[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2006, 42(4): 86-91.
- [4] Cai X F, Shen G H, Nguyen T D, et al. Inhibitory effect of kaurane type diterpenoids from *Acanthopanax koreanum* on TNF- α secretion from trypsin-stimulated HMC-1 cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(9): 731-734.
- [5] Ruan H S, Wang W M, Zhang H J. Advances in studies on active ingredient of *Acanthopanax senticosus* and preparation by HPLC [J]. *J Heilongjiang Chin Med*, 2006, 3(1): 57-59.