

番茄红素改善缺血再灌注模型大鼠认知功能损伤

李 祥¹,王 波¹,金 鑫²,李国术³,何平平⁴,唐艳艳⁵,张 敏⁵,李金凤⁵,欧阳新平⁵

(1. 南华大学附属第一医院麻醉科,湖南 衡阳 421001;2. 南华大学附属南华医院妇产科;
3. 衡阳市中心医院急诊科;4. 南华大学护理学院;5. 南华大学医学院生理学教研室)

摘 要: **目的** 检测番茄红素(LP)对大脑中动脉栓塞(MCAO)所致缺血再灌注模型大鼠认知功能的影响。**方法** 制备 MCAO 模型大鼠,使用 Morris 水迷宫及 Y 迷宫实验检测 LP 对模型大鼠认知功能的影响。**结果** MCAO 术后大鼠水迷宫平均游泳速度显著下降,Y 迷宫学会逃避电击所需训练次数显著增加。LP 低剂量及高剂量大鼠与模型组大鼠比较,水迷宫平均游泳速度显著增加,Y 迷宫学会逃避电击所需训练次数显著减少。**结论** 番茄红素改善缺血再灌注模型大鼠的认知功能损伤。

关键词: 番茄红素; 创伤性脑外伤; 缺血再灌注模型; 认知

中图分类号: R965 **文献标识码:** A

Lycopene Improves Cognitive Function in Ischemia-Reperfusion Rat Models

LI Xiang, WANG Bo, JIN Xin, et al

(Department of anesthesiology, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: **Objective** To examine effects of Lycopene(LP) on cognitive function in ischemia-reperfusion rat models caused by middle cerebral artery obstruction(MCAO). **Methods** MCAO rat models were set up and effects of LP were detected on cognitive function in rat models with Morris water maze and Y maze test. **Results** Average swimming speed of rats in water maze dropped significantly after MCAO, required training numbers need for avoiding electric shock in Y maze increased significantly. Compared with model group rats, average swimming speed of rats in water maze in low dose LP and high dose LP group increased significantly, training numbers need for avoiding electric shock in Y maze in low dose LP and high dose LP group decreased significantly. **Conclusion** Lycopene improves cognitive function in ischemia-reperfusion rat models.

Key words: lycopene; traumatic brain injury; ischemia reperfusion model; cognitive function

番茄红素(lycopene, LP)是富含于番茄、西瓜、葡萄柚和木瓜等蔬菜水果中具有强抗氧化作用的成分之一,它可通过淬灭 O_2^- 及 H_2O_2 有效地阻断自由基的损害^[1]。LP 具有诸多重要的生物学功能,例如清除自由基、抗氧化、预防肿瘤、抗衰老、调节机体免

疫功能等作用^[2]。

临床研究表明,各种原因引起的全脑及局部脑缺血都能引起缺血—再灌注损伤,包括创伤性脑外伤(tramatic brain injury, TBI)、脑梗塞、心搏骤停脑损伤等。近来研究发现,LP 对大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery obstructaion, MCAO)所致缺血再灌注模型大鼠脑组织具有保护作用^[3]。但尚未见 LP 对 MCAO 大鼠认知功能影响的报道。本实验采用线栓法制作 MCAO 缺血再灌注大鼠模型,观察 LP 对 MCAO 大鼠认知功能的影响。

收稿日期:2013-08-27

基金项目:湖南省科技厅资助项目(2013FJ3027)、湖南省教育厅资助项目(13B103)、衡阳市科技局课题(2012KJ22)。

作者简介:李祥,硕士,主治医师,研究方向:创伤性脑外伤, E-mail: nhfy1234@163.com. 通讯作者欧阳新平,硕士,讲师,研究方向:神经系统疾病, y1655@189.cn.

1 材料与方法

1.1 试剂

番茄红素由华北制药股份有限公司提供,使用时用色拉油稀释,隔天配置,4℃避光储存。

1.2 动物及分组

使用SD大鼠60只(雄性,130~140g),购自南华大学实验动物学部。普通饲料喂养,自由饮水。随机分为6组:正常组、假手术组、模型组、模型对照组、LP处理组(5、20mg/kg LP)。MCAO造模后,LP处理组大鼠分别给予LP 5、20mg/kg·d灌胃,连续120d,模型对照组大鼠给予等量色拉油,模型组则不予处理。

1.3 大脑中动脉栓塞模型的制备

模型组、模型对照组、LP低剂量组及LP高剂量组大鼠行MCAO造模手术。使用改良Longa法作为手术方法^[4]:腹腔注射10%水合氯醛(350mg/kg)麻醉大鼠,仰卧位固定,沿颈部正中中线切开皮肤进入,分离出颈内动脉(ICA)、颈总动脉(CCA)、左侧颈外动脉(ECA)及迷走神经。钝性分离迷走神经及颈总动脉,手术线结扎颈总动脉的近心端及左侧颈外动脉分叉端,将栓线(单丝尼龙渔线,直径0.24mm)插入颈总动脉上小口并向颈内动脉缓慢送入,进线约18mm略感到阻力后固定栓线。缝合筋膜及皮肤,将栓线末端留于皮肤外。缺血后2h,轻轻拉出栓线并将皮外栓线剪断。假手术组动物除不插入栓线外,所有操作均同手术组。术后室温严格控制在24~26℃。大鼠麻醉清醒后出现右侧Homer征为模型成功标志。剔除各缺血组造模失败大鼠。

1.4 Morris水迷宫实验

灌胃120天后进行Morris水迷宫实验,检测大鼠的空间学习记忆能力。迷宫为直1.2米黑色圆桶。水深18cm,水温(23±1)℃,分成A、B、C、D四个区域。终点区有一低于水面1cm的安全平台。连续4d进行定位巡航实验,一天四次,每次分别从4个不同象限将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠从入水到找到并爬上平台的时间(潜伏期)和路程。若大鼠在120s内未找到平台,则由实验者将其引向平台,潜伏期记为120s。大鼠找到并爬上平台后,让其在平台上休息10s后,再进行下一次训练。记录路程及潜伏期,计算出游泳速度,将每天4次的算术平均值(即平均游泳速度)记为当天的成绩。

1.5 Y迷宫实验

Y迷宫是一个三等分辐射反射箱,每个臂的顶端有一个15瓦白炽灯。当灯亮时,表示该臂没有电,其余的臂和交界地区为电击区(50~70伏交流电)。当实验开始,将大鼠放入任一臂内适应5分钟。然后随机改变点击区,观察动物的逃离电击区和进入安全区域的能力。正确的反应是当出现电击时10s内进入安全区。每次电击30s,每次训练给予10次电击,其中有9次为正确反应被视为学会,记录大鼠学会逃避电击所需训练次数。

1.6 统计学分析

使用SPSS13.0软件进行统计学分析。所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组大鼠之间的运动及认知实验数据使用单因素方差分析进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 LP增加MCAO大鼠在Morris水迷宫实验中的平均游泳速度

由表1可见,在第3天及第4天水迷宫检测中,假手术组大鼠平均游泳速度与正常大鼠比较,差异无显著性;模型组与模型对照组大鼠平均游泳速度显著低于正常组;模型对照组大鼠平均游泳速度与模型组大鼠比较,差异无显著性;LP 5mg/kg剂量组及LP 20mg/kg剂量组大鼠平均游泳速度显著高于模型组。

表1 各组大鼠水迷宫平均游泳速度结果(cm/s)

分 组	第3天	第4天
正常组	30.87 ± 11.59	32.96 ± 12.75
假手术组	29.93 ± 12.68	33.13 ± 12.68
模型组	21.32 ± 9.79 ^a	23.26 ± 8.79 ^a
模型对照组	20.13 ± 7.68 ^a	22.13 ± 6.68 ^a
LP 5 mg/kg 处理组	27.85 ± 10.79 ^b	29.56 ± 8.19 ^b
LP 20 mg/kg 处理组	29.47 ± 10.02 ^c	31.71 ± 9.31 ^c

与正常组比较,a; $P < 0.01$;与模型组比较,b; $P < 0.05$,c; $P < 0.01$

2.2 LP减少MCAO大鼠在Y迷宫实验中学会逃避电击所需训练次数

由表2可见,在Y迷宫检测中,假手术组大鼠学会逃避电击所需训练次数与正常大鼠比较,差异无显著性;模型组与模型对照组大鼠学会逃避电击所需训练次数显著高于正常组;模型对照组大鼠学

会逃避电击所需训练次数与模型组大鼠比较,差异无显著性;LP 5 mg/kg 处理组及 LP 20 mg/kg 处理组大鼠学会逃避电击所需训练次数显著低于模型组。

表 2 各组大鼠 Y 迷宫学会逃避电击所需训练次数结果

分 组	训练次数
正常组	20.0 ± 3.0
假手术组	21.5 ± 3.5
模型组	35.5 ± 5.8 ^a
模型对照组	33.5 ± 6.5 ^a
LP 5 mg/kg 处理组	26.5 ± 4.0 ^b
LP 20 mg/kg 处理组	22.0 ± 3.5 ^c

与正常组比较,a;*P* < 0.01;与模型组比较,b;*P* < 0.05,c;*P* < 0.01

3 讨 论

实验结果显示,MCAO 术后大鼠水迷宫平均游泳速度显著下降,Y 迷宫学会逃避电击所需训练次数显著增加,说明缺血再灌注模型大鼠认知功能明显下降。LP 低剂量及高剂量大鼠与模型组大鼠比较,水迷宫平均游泳速度显著增加,Y 迷宫学会逃避电击所需训练次数显著减少,说明 LP 能提高缺血再灌注模型大鼠认知功能。

LP 是类胡萝卜素中效果最好的一种氧清除剂,目前受到科研人员的密切关注。它能增强体内某些抗氧化酶的活性,像谷胱甘肽还原酶、谷胱甘肽过氧化物酶及超氧化物歧化酶^[5]。临床研究表明,增加人体对抗氧化剂的摄取可以预防轻度认知障碍的病人进一步发展成为老年痴呆^[6];动物实验显示,LP 对脑功能具有保护作用^[7]。魏延等研究表明,LP 对 MCAO 所致缺血再灌注模型大鼠脑组织具有保护作用^[3],推测 LP 对 MCAO 大鼠脑组织的保护作用可能与 LP 减少缺血再灌注后 ROS 和 LD 的蓄积、减轻脑组织炎症反应、上调 HIF-1α mRNA、Bcl-2 mRNA 的表达水平有关^[3]。因此,LP 改善 MCAO 大鼠认

知功能与其保护脑组织的作用密切相关。
TBI 后常伴有学习与记忆等认知功能障碍,这除了与 TBI 造成神经细胞的直接损伤外,也与其导致缺血—再灌注损伤有重要关系^[8]。本研究发现,LP 改善 MCAO 大鼠认知功能,这对于 TBI 后所致缺血—再灌注损伤的防治有一定的意义。

参考文献:

[1] Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1740 (2):101-107.

[2] Videan EN, Heward CB, Chowdhury K, et al. Comparison of biomarkem of oxidative stress and cardiovascular disease in humans and chimpanzees [J]. *Comp Med*, 2009, 59(3):87-96.

[3] 魏延, 沈新南, 麦嘉仪, 等. 番茄红素对脑缺血再灌注大鼠活性氧及缺氧损伤的影响 [J]. *中华预防医学杂志*, 2010, 44(1):31-38.

[4] Longa ZE, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-89.

[5] Lauridsen VST, Daneshvar B, Jakobsen J. Dose response effects of Lycopene on selected drug metabolizing and antioxidant enzymes in the rat [J]. *Cancer Lett*, 2000, 154 (2):201-210.

[6] 景周, 高东, 高唱, 等. 血管性痴呆大鼠海马 IL-1B、TNF-α 含量变化及大蒜素干预的研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2004, 26(17):1515-1517.

[7] Hsiao G, Fong TH, Tm NH, et al. A potent antioxidant, lycopene, affords neuroprotection against microglia activation and focal cerebral ischemia in rats [J]. *In Vivo*, 2004, 18(3):351-356.

[8] 郭嵩兵, 田利丽, 吕秋石, 等. 神经生长因子经鼻靶向治疗创伤性脑外伤后大鼠认知功能障碍 [J]. *医学研究生学报*, 2012, 25(5):471-475.

(此文编辑:秦旭平)