

# 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力及肌力的作用

刘亚军<sup>1\*</sup>, 张倩<sup>2</sup>, 陈灵秀<sup>3</sup>, 吴婧<sup>4</sup>, 何文<sup>1</sup>, 王丽梅<sup>5</sup>, 刘文斌<sup>1</sup>

(1. 武汉轻工大学医学与健康学院, 湖北武汉 430023) (2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院, 湖北武汉 430023) (3. 华中科技大学同济医学院附属同济医院, 湖北武汉 430023) (4. 武汉市中心医院, 湖北武汉 430023) (5. 武汉轻工大学生命科学与技术学院, 湖北武汉 430023)

**摘要:** 探究菱角壳提取物对脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力和肌力的作用及机制。成年雄性 SD 大鼠建立局灶性脑缺血再灌注模型, 随机分为假手术组、模型组、菱角壳提取物组, 每组 8 只。给药 7 d 后, 对大鼠进行神经功能缺陷评分、Morris 水迷宫定位航行实验和空间探索实验及大鼠四肢肌力测定; 同时检测脑组织超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 活性及丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量。结果发现, 菱角壳提取物组大鼠神经功能缺陷评分 2.63 分, 低于模型组 ( $P<0.05$ ); 定位航行实验中, 菱角壳提取物组大鼠在平台所在象限停留时间为 24.89 s, 与模型组相比延长 ( $P<0.05$ ), 游泳路程为 24 084.20 mm, 明显增加 ( $P<0.001$ ), 成功潜伏期 16.22 s 和总路程 24 404.65 mm 则显著缩短 ( $P<0.001$ ); 空间探索实验中, 与模型组相比, 大鼠穿越有效区域次数 5.75 次、在有效区域停留时间 22.21 s 以及在有效区域游泳路程 33 744.41 mm 均明显增加 ( $P<0.05$ ); 菱角壳提取物组大鼠四肢肌力为 296.18 N/g, 与模型组相比明显增强 ( $P<0.001$ ); 大鼠脑组织中 SOD 活性和 MDA 含量分别为 4.27 NU/mg pro、2.33 nmol/mg pro, 与模型组相比, 结果亦具有显著性差异 ( $P<0.001$ )。以上结果表明, 菱角壳提取物能明显增强局灶性缺血再灌注大鼠的学习记忆能力和肌力, 该作用可能与其减轻自由基损伤有关。

**关键词:** 菱角壳提取物; 脑缺血再灌注; Morris 水迷宫; 学习记忆; 肌力; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

文章编号: 1673-9078(2023)07-1-6

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.1027

## Effects of Water Caltrop Shell Extract on Learning and Memory Abilities as well as Muscle Strength of Rats with Focal Cerebral Ischemia-reperfusion

LIU Yajun<sup>1\*</sup>, ZHANG Qian<sup>2</sup>, CHEN Lingxiu<sup>3</sup>, WU Jing<sup>4</sup>, HE Wen<sup>1</sup>, WANG Limei<sup>5</sup>, LIU Wenbin<sup>1</sup>

(1.College of Medicine and Health Science, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

(2.Union Hospital, Tongji Medical College of HUST, Wuhan 430023, China) (3.Tongji Hospital, Tongji Medical College of HUST, Wuhan 430023, China) (4.The Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430023, China)

(5.College of Life Science and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

**Abstract:** The effects and working mechanism of water caltrop shell extract on the learning and memory abilities as well as muscle strength of rats with focal cerebral ischemia-reperfusion were explored. Focal cerebral ischemia-reperfusion model was established using adult male SD rats, and the rats were randomly divided into the sham operation group, model group and water caltrop shell extract group, with each group having 8 rats. After 7 days of administration, the rats were scored based on neurological deficits; Morris water maze experiments

引文格式:

刘亚军,张倩,陈灵秀,等.菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力及肌力的作用[J].现代食品科技,2023,39(7):1-6.

LIU Yajun, ZHANG Qian, CHEN Lingxiu, et al. Effects of water caltrop shell extract on learning and memory abilities as well as muscle strength of rats with focal cerebral ischemia-reperfusion [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 1-6.

收稿日期: 2022-08-16

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0400603); 农产品加工与转化湖北省重点实验室开发课题 (2018HBSQDKFA03)

作者简介: 刘亚军 (1977-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 药理学, E-mail: 1002877912@qq.com

including place navigation test and space exploration test were carried out; Muscular strength of rats' four limbs was measured. Meanwhile, the activity of SOD and the content of MDA in the brain tissues were measured. The results showed that the score of neurological deficits for the water caltrop shell extract group was 2.63, which was lower than that of the model group ( $P<0.05$ ). In the place navigation test, the residence time in the platform's quadrant for the water caltrop shell extract group was 24.89 s, which was longer than that of the model group ( $P<0.05$ ), and the swimming distance was 24 084.20 mm, which was significantly prolonged ( $P<0.001$ ); the latency of success was 16.22 s and total distance was 24 404.65 mm, which were significantly shortened ( $P<0.001$ ). In spatial probe test, compared with the model group, the number of crossing the effective area was 5.75 times, the duration of staying in the effective area was 22.21 s and the distance of swimming in the effective area was 33 744.41 mm, all of which increased significantly ( $P<0.05$ ). The four limbs' muscular strength of the water caltrop shell extract group was 296.18 N/g, which was significantly higher than that of the model group ( $P<0.001$ ). The SOD activity and MDA content in the brain tissues were 4.27 NU/mg pro and 2.33 nmol/mg pro, respectively, which differed significantly from the model group ( $P<0.001$ ). The above results showed that the water caltrop shell extract could enhance the learning and memory abilities as well as the muscular strength of rats with focal cerebral ischemia-reperfusion, which may be related to its ability to reduce free radical-induced injury.

**Key words:** water caltrop shell extract; cerebral ischemia-reperfusion; morris water maze; learning and memory; muscular strength; superoxide dismutase (SOD); malondialdehyde (MDA)

缺血性脑卒中的发病率呈逐年上升趋势, 具有高发病率、高致残率、高复发率以及高病死率的特点, 已成为威胁我国国民健康的第一位死亡原因疾病<sup>[1]</sup>。目前, 针对缺血性脑卒中的治疗关键是及时恢复脑的血供, 即恢复再灌注。溶栓再灌注已成为常规治疗手段, 其在降低病死率挽救病人生命方面的效果已经得到证实<sup>[2]</sup>, 但再灌治疗后不同程度的后遗症如认知功能障碍、偏瘫、肌力减退等运动功能障碍仍然严重影响患者的生活质量<sup>[3]</sup>。研究还证实, 缺血再灌注后, 机体通过多种途径产生的大量自由基与再灌后的损伤机制密切相关, 自由基可通过攻击脑组织细胞成分如细胞膜磷脂、蛋白质、核酸等, 生成大量的脂质过氧化物如丙二醛 (MDA) 等损伤细胞, 同时, 自由基清除系统如超氧化物歧化酶 (SOD) 等功能也进一步受到抑制, 最终导致细胞死亡, 引起神经功能受损<sup>[4]</sup>。这些对认知及运动功能的损害不仅极大影响了患者的社会适应能力, 而且给家庭和社会造成了沉重的负担<sup>[5]</sup>, 因此, 探寻能同时有效改善这些功能障碍的提取物并进行相关的功能性研究迫在眉睫。

菱角壳是菱角果实的外种皮, 常作为下脚料被丢弃, 然而菱角壳同菱角肉一样也具有多种药用价值。最早《本草纲目拾遗》就有关于菱角壳的药用记载<sup>[6]</sup>。《中华药海》也记载其具有解毒疗疮、涩肠止泻、清化湿热等疗效<sup>[7]</sup>。现代研究也已证明, 菱角的果壳中含有黄酮类、多酚类、多糖类、甾体类以及生物碱类等成分, 可发挥多种药理活性<sup>[8-11]</sup>。有研究已证实, 菱角壳提取物对多种胃癌细胞具有抗癌活性<sup>[12,13]</sup>; 多名学者通过实验也证实了它的强抗氧化作用<sup>[14,15]</sup>; 同时也有关于菱角壳提取物抗炎作用的相关性研究<sup>[16,17]</sup>。但菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力和肌

力是否具有改善作用及其作用机制未见报道。本研究拟采用改良 Longa 线栓法制作局灶性脑缺血再灌注模型, 探讨菱角壳提取物对脑缺血再灌注大鼠认知功能障碍和运动功能障碍的改善作用及初步作用机制, 进而为其应用于临床提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物、材料与主要试剂

SD 雄性大鼠, 体质量 260~280 g, SPF 级, 由湖北逸挚诚生物科技有限公司提供 (动物许可证号: SCXK(鄂)2021-0020, 动物使用许可证号: SYXK(鄂)2021-0088)。

菱角壳提取物, 武汉轻工大学生命科学与技术学院提供; 芦丁标准品, 上海源叶生物公司; 没食子酸、亚硝酸钠、六水氯化铝、福林酚, 国药集团化学试剂有限公司; SOD、MDA 试剂盒, 南京建成生物工程研究所产品。

### 1.2 主要仪器与设备

XR-XM101 Morris 水迷宫系统, 上海欣软信息科技有限公司; YLS-13A 大小鼠抓力测定仪, 济南益延科技发展有限公司; 752 紫外分光光度计, 上海沪粤明科学仪器有限公司; CP-3100 电动剃须刀, 深圳科德士电器有限公司; RE-3000A 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; ACS-30 电子秤, 宁波邱隘奋进电子衡器厂; SCIENT2-12N 冷冻干燥机, 宁波新芝生物科技股份有限公司。

### 1.3 实验方法

### 1.3.1 动物分组

雄性 SD 大鼠用普通饲料进行适应性喂养, 环境条件为 26 °C 恒温, 相对湿度 40%~70%, 自由进食与饮水。喂养一周后, 随机选取 8 只作为假手术组, 另选取造模成功大鼠随机分为模型组 (局灶性脑缺血再灌注组) 和菱角壳提取物组, 每组 8 只。本研究已通过武汉轻工大学生物医学伦理委员会批准。

### 1.3.2 菱角壳提取物的制备

1 kg 四角菱壳粉与 70% 乙醇, 以 1:10 充分搅拌后, 60 °C 恒温水浴 30 min, 50 °C 使用超声破壁, 时长 45 min, 再一次 60 °C 恒温水浴 30 min 后进行过滤, 滤液减压浓缩后冻干。同时对醇提物中的活性成份黄酮、多酚、总糖进行了测定<sup>[18]</sup>, 测得其质量分数分别为 30.50%、31.04%、29.69%。

### 1.3.3 模型的制备

采用改良 Longa 法制作局灶性脑缺血再灌注模型, 大鼠用  $m=3\%$  戊巴比妥钠 (1.2 mL/100 g) 腹腔注射麻醉后, 仰卧固定, 稍靠右侧切开分离右侧颈总动脉、颈外动脉及颈内动脉, 结扎颈外和颈总动脉, 于颈内动脉远心端备线, 颈总动脉近分叉处切口, 插入栓线 (深度  $18.5\pm 0.5$  mm), 然后扎紧备线, 外留 1 cm 钓鱼线头, 缝合皮肤, 再灌注时轻轻提拉所留线头至有阻力即可。假手术组操作同上, 但栓线只插入 15 mm。所有大鼠缺血 2 h 后参照 Zea-Longa 法进行神经功能缺陷评分, 1~3 分者标志造模成功<sup>[19,20]</sup>。再灌注 12 h 后给药组立即腹腔注射菱角壳提取物 100 mg/kg, 假手术组和模型组腹腔注射相应量的生理盐水, 每天 1 次, 连续 7 d。注射部位均采用碘伏进行消毒处理。

### 1.3.4 大鼠神经功能缺陷评分

给药 7 d 后采用 Longa 5 级 4 分法进行神经功能缺陷评分, 0 分: 无神经功能缺损表现, 大鼠活动正常; 1 分: 提尾时大鼠左前肢不能完全伸展; 2 分: 大鼠爬行时向左侧追尾转圈; 3 分: 爬行时明显向左侧倾倒; 4 分: 自主爬行障碍<sup>[19]</sup>。

### 1.3.5 Morris 水迷宫行为学检测

给药 7 d 后大鼠依次做 Morris 水迷宫行为学检测。水迷宫为一个直径为 115 cm, 高为 65 cm, 深为 40 cm 的圆形水池, 站台为直径 9 cm 的透明圆盘, 放置于水平面下 2 cm, 池壁贴上形状不同的标志物标明四个象限<sup>[21,22]</sup>。计算机系统开启后, 可通过摄像头自动跟踪大鼠的游泳轨迹并记录实验相关数据。此部分实验内容包括: (1) 定位航行实验: 历时 4 d, 每天 4 次。随机选择某个象限, 入水象限池壁的中点为大鼠入水点, 放入过程中大鼠需面向池壁。记录 1 min 内大鼠寻找平台的时间 (成功潜伏期), 若 60 s 内找到平台并停

留 30 s, 视为寻台成功; 若 60 s 内未能找到平台, 由实验员引导上台停留 20 s 并记录潜伏期为 60 s。实验结束后, 将大鼠移走并擦干, 放入笼内休息, 下一只大鼠重复以上操作。(2) 空间探索实验: 在完成定位航行实验后一天将平台撤离, 此次用大鼠穿越平台次数作为考察指标。让大鼠进行 60 s 自由游泳, 记录动物在平台象限所花的时间和进入该象限的次数。

### 1.3.6 大鼠四肢肌力测定

抓力仪水平放置好后按下测定键, 将大鼠轻轻放在抓力板上, 抓住大鼠尾巴轻轻后拉, 待其抓牢抓力板后, 再均匀用力平行拖拽大鼠的尾巴, 仪器会自动记录大鼠每次的最大抓力值。计算非连续测量的 3 次数值的平均值, 即为该大鼠的肌力大小<sup>[23]</sup>。

### 1.3.7 大鼠脑组织 SOD 活性和 MDA 含量测定

取缺血再灌注侧脑组织, 用 4 °C 生理盐水研磨制成 10% 的脑组织匀浆, 离心取上清备用。用酶化学发光法测定 SOD 活性, 硫代巴比妥酸比色法测定 MDA 含量, 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定蛋白质含量。具体操作均按试剂盒说明书进行。

## 1.4 数据分析

使用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。实验数据以均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析,  $P<0.05$  时差异具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠神经功能缺陷评分的影响

表 1 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠神经功能缺陷评分的影响

Table 1 Effects of water chestnut pericarp extract on neurological deficit score in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	大鼠神经功能缺陷评分
假手术组	0.25±0.17
模型组	2.88±0.17**
菱角壳提取物组	2.63±0.17###

注: 与假手术组相比, \*\*为  $P<0.001$ ; 与模型组相比, ###为  $P<0.001$ 。

神经功能缺陷评分作为卒中的终点指标之一, 其在评估病情及药物效果方面的重要性不言而喻<sup>[24]</sup>。从表 1 可知, 模型组大鼠术后 7 d 神经功能缺陷评分较高, 与假手术组相比有显著性差异 ( $P<0.001$ ), 说明

缺血再灌注引起脑损伤，导致了神经功能障碍，与王晓茹等<sup>[25]</sup>的研究一致。给予7 d 菱角壳提取物后，大鼠神经功能缺陷评分为2.63分，与模型组相比降低，差异具有统计学意义 ( $P<0.001$ )。以上结果表明，菱角壳提取物对大鼠偏瘫症状的改善作用较为显著，说明该提取物在改善局灶性脑缺血再灌注后大鼠运动功能障碍方面具有较好的效果。

## 2.2 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠定位航行能力的影响

定位航行试验中，模型组大鼠成功潜伏期时间和总路程与假手术组相比均明显延长 ( $P<0.001$ )，在平

台所在象限停留时间缩短 ( $P<0.05$ )，游泳路程也显著减少 ( $P<0.001$ )，这与Wang等<sup>[26]</sup>关于缺血再灌注后大鼠空间学习和记忆能力明显减弱的研究结论一致。而给予菱角壳提取物后，其在平台所在象限停留时间和游泳路程与模型组相比均延长，分别为24.89 s ( $P<0.05$ )、24 084.20 mm ( $P<0.001$ )，成功潜伏期为16.22 s，总路程为24 404.65 mm，比模型组均明显缩短 ( $P<0.001$ ) (见表2)，提示给予缺血再灌注大鼠菱角壳提取物后，大鼠对平台及平台所在象限具有了更好的记忆能力。学习记忆能力是认知功能的重要组成部分<sup>[5]</sup>，说明菱角壳提取物对缺血再灌注后大鼠的认知功能障碍具有显著的改善作用。

表2 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠定位航行能力的影响

Table 2 Effects of water chestnut pericarp extract on place navigation ability in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	成功潜伏期/s	总路程/mm	在平台所在象限停留时间/s	在平台所在象限游泳路程/mm
假手术组	21.01±9.39	26 109.14±12 332.32	24.96±5.17	22 917.07±9 031.09
模型组	47.58±17.21**	110 422.28±69 280.07**	19.98±3.46*	7 479.28±1 446.59**
菱角壳提取物组	16.22±9.86 <sup>##</sup>	24 404.65±7 713.53 <sup>##</sup>	24.89±1.41 <sup>#</sup>	24 084.20±12 577.44 <sup>##</sup>

注：与假手术组相比，\*为 $P<0.05$ ，\*\*为 $P<0.001$ ；与模型组相比，<sup>#</sup>为 $P<0.05$ ，<sup>##</sup>为 $P<0.001$ 。

表3 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠空间探索能力的影响

Table 3 Effects of water chestnut pericarp extract on spatial probe ability in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	经过有效区域次数/次	有效区域停留时间/s	有效区域游泳路程/mm
假手术组	6.00±1.85	22.73±2.92	33 719.97±28 067.99
模型组	4.12±1.13*	18.50±4.03*	6 011.13±1 582.13*
菱角壳提取物组	5.75±1.28 <sup>#</sup>	22.21±2.97 <sup>#</sup>	33 744.41±27 310.24 <sup>#</sup>

注：与假手术组相比，\*为 $P<0.05$ ；与模型组相比，<sup>#</sup>为 $P<0.05$ 。

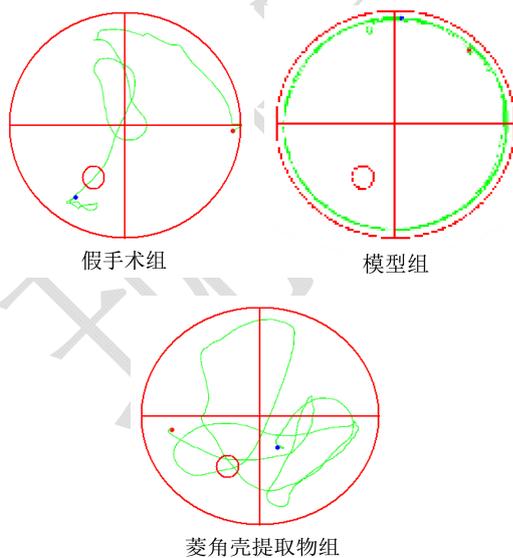


图1 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠空间探索阶段路径的影响

Fig.1 Effects of water chestnut pericarp extract on path of spatial probe in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion

## 2.3 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠空间探索能力的影响

第5 d为空间探索试验，平台已经撤离，周围为有效区域。模型组、假手术组和菱角壳提取物组的空间探索阶段路径图如图1，通过路径图发现，模型组大鼠在各个象限的路径没有明显差异，呈现为边缘型搜索策略，这与缪培等<sup>[27]</sup>在空间探索实验中所发现的缺血再灌注大鼠边界时间比和距离比均增加的结果一致。本实验还进一步观察到菱角壳提取物组大鼠路径图呈现的是趋向型搜索策略，其在有效区域的活动路径显著延长，说明给予菱角壳提取物后，大鼠的认知损伤有所减轻。此外，通过表3可以看出，与假手术组相比，模型组大鼠其穿越有效区域次数、在有效区域停留时间以及在有效区域游泳路程均减少，差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ )，这与Liu等<sup>[28]</sup>的研究结果一致。而给予菱角壳提取物后，大鼠穿越有效区域次

数为 5.75 次、在有效区域停留时间为 22.21 s、在有效区域游泳路程是 33 744.41 mm，与模型组相比均增加 ( $P<0.05$ )，结果表明，菱角壳提取物组大鼠寻找原平台所在位置的能力明显增强。研究发现，缺血性脑卒中患者经恢复血流治疗后大多数遗留有不同程度的认知功能障碍<sup>[29]</sup>。该实验结果表明，菱角壳提取物能较好改善脑缺血再灌注大鼠的空间记忆能力和主动探索能力，说明其对缺血再灌注后的认知功能低下具有较好的提升作用。

## 2.4 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠四肢肌力的影响

本实验还对菱角壳提取物是否具有增强缺血再灌注大鼠四肢肌力作用进行了研究。从表 4 可以看出，与假手术组相比，模型组大鼠四肢肌力明显降低 ( $P<0.001$ )，与临床关于上下肢肌力下降是缺血性脑卒中患者常见的后遗症之一的研究结果<sup>[30]</sup>完全吻合。本实验给予菱角壳提取物治疗一周后，大鼠四肢肌力为 296.18 N/g，与模型组相比显著增强，且差异具有统计学意义 ( $P<0.001$ )。由结果可知，菱角壳提取物对大鼠四肢肌力具有较好的改善作用，这与张雨晨等<sup>[31]</sup>的研究结果一致，该研究发现，中、高剂量组菱角壳水提物可明显减轻小鼠肌肉疲劳，显著提高小鼠爬杆时间。由此可见，菱角壳提取物能增强大鼠四肢肌力，从而改善局灶性脑缺血再灌注后的运动功能障碍。

表 4 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠四肢肌力的影响

Table 4 Effects of water chestnut pericarp extract on four limbs' muscular strength of rats with focal cerebral ischemia-reperfusion ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	大鼠四肢肌力(N/g)
假手术组	366.58±52.07
模型组	218.45±64.67**
菱角壳提取物组	296.18±83.40###

注：与假手术组相比，\*\*为  $P<0.001$ ；与模型组相比，###为  $P<0.001$ 。

## 2.5 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

氧化应激反应是缺血性脑卒中重要的组织损伤机制之一，大量自由基的产生可对神经细胞及功能造成巨大影响<sup>[32]</sup>。有研究报道，菱角壳具有较强的体外清除自由基的能力<sup>[15]</sup>，杨梦等<sup>[33]</sup>则在酒精性肝损伤的实验中，进一步证实了菱角壳水提物体内清除自由基的

能力，其可通过降低 MDA 含量和升高 SOD 活性，减轻肝脏的氧化应激反应，从而保护受损的肝细胞。基于此，本实验检测了菱角壳提取物对大鼠脑组织中 SOD 活性和 MDA 含量的影响。由表 5 可知，模型组与假手术组相比，脑组织中 SOD 活性显著降低，MDA 含量明显增加 ( $P<0.001$ )，而菱角壳提取物组大鼠脑组织中 SOD 活性和 MDA 含量分别为 4.27 NU/mg pro、2.33 nmol/mg pro，与模型组相比，统计学结果具有显著性差异 ( $P<0.001$ )。

表 5 菱角壳提取物对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

Table 5 Effects of water chestnut pericarp extract on the activity of SOD and the content of MDA in rats with focal cerebral ischemia-reperfusion ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	SOD/(NU/mg pro)	MDA/(nmol/mg pro)
假手术组	4.56±0.29	2.26±0.28
模型组	3.38±0.21###	3.24±0.16**
菱角壳提取物组	4.27±0.25**	2.33±0.13###

注：与假手术组相比，\*\*为  $P<0.001$ ；与模型组相比，###为  $P<0.001$ 。

## 3 结论

本实验研究发现，应用菱角壳提取物 7 d 后，大鼠的偏瘫症状明显减轻，活动能力基本接近正常；定位航行实验及空间探索试验也显示菱角壳提取物组大鼠对平台以及平台所在的位置具有较好的记忆能力；抓力实验中同样也显示出了其增强大鼠四肢肌力的显著作用。这些结果均证实菱角壳提取物不仅可以有效提升缺血再灌注后的学习记忆能力，改善大鼠的认知功能；同时对缺血再灌注后的肌力下降也有显著的改善作用，从而明显减轻其运动功能障碍。其对神经系统的这种保护作用可能与菱角壳提取物减轻自由基损伤有关。因此，将菱角壳提取物用于临床治疗脑缺血再灌注损伤具有一定的应用前景，后期将在提取物有效成分分析与纯化以及是否存在其他作用机制方面作进一步深入细致的研究，为其能真正用于临床提供更多的实验依据。

## 参考文献

- [1] 贺国华,王振.急性缺血性脑血管病血管内治疗进展[J].中国实用神经疾病杂志,2020,23(13):1193-1197.
- [2] 吕莹.阿替普酶规范剂量静脉溶栓治疗急性缺血性卒中的效果[J].北方药学,2016,13(2):95-96.
- [3] Hewer R L. Stroke: sequelae and rehabilitation [J]. Curr Opin Neurol Neurosurg. 1990, 3(5): 719-721.

- [4] Saito A, Maier C M, Narasimhan P, et al. Oxidative stress and neuronal death/survival signaling in cerebral ischemia [J]. *Molecular Neurobiology*, 2005, 31(1-3): 105-116.
- [5] Müller S V, Hildebrandt H, Sachsenheimer W. Analysis of the need for clinical neuropsychology in inpatient neurological rehabilitation (phases C and D) - an empirical study of 788 patients [J]. *Rehabilitation (Stuttg)*, 2000, 39(1): 17-25.
- [6] 赵学敏.本草纲目拾遗[M].北京:人民卫生出版社,1963.
- [7] 冉先德.中华药海[M].哈尔滨:哈尔滨出版社,1993.
- [8] Huang H C, Chao C L, Liaw C C, et al. Hypoglycemic constituents isolated from *Trapa natans* L. pericarps [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(19): 3794-3803.
- [9] 牛凤兰,尹建元,董威严,等.菱角中抗肿瘤活性成分的分离、提纯及结构鉴定[J]. *高等学校化学学报*, 2005, 26(5): 852-855.
- [10] 尚庆坤,李德谦,玄玉实,等.气相色谱-质谱法分析研究野生菱角壳中多糖化合物的单糖组成[J]. *分析化学*, 2005, 33(1): 73-76.
- [11] 左袁袁,吕寒,简曠昱,等.菱角壳化学成分及其药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(4): 94-99.
- [12] 牛凤兰,李晨旭,黄威严,等.菱壳水提物对胃癌细胞抑制作用的实验研究[J]. *白求恩医科大学学报*, 2001, 27(5): 495-497.
- [13] 林秋生.菱壳生物活性成分分析及抗胃癌机制研究[D].杭州:浙江大学,2013.
- [14] 刘志国,赵文亚.菱角壳粗多糖体外清除自由基活性的研究[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(22): 11182-11183, 11209.
- [15] 裴刚,胡乔铭,向德标,等.二角菱壳和四角菱壳不同提取物抗氧化能力比较研究[J]. *中国药物经济学*, 2013, 46(7): 225-226.
- [16] Kim Y S, Hwang J W, Jang J H, et al. *Trapa japonica* pericarp extract reduces LPS-induced inflammation in macrophages and acute lung injury in mice [J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 392-407.
- [17] 雷秋琪.灵芝发酵菱角壳成分解析及其生物学活性评价[D].武汉:武汉轻工大学,2022.
- [18] 胡晓潇.常见水生蔬菜提取物生物活性研究[D].武汉:武汉轻工大学,2017.
- [19] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [20] Zhang T, Li Z, Qin Z, et al. Neuroprotection of chikusetsu saponin V on transient focal cerebral ischemia/reperfusion and the underlying mechanism [J]. *Phytomedicine*, 2021, 84: 153516-153526.
- [21] Pouzet B, Zhang W N, Feldon J, et al. Hippocampal lesioned rats are able to learn a spatial position using non-spatial strategies [J]. *Behav Brain Res*, 2002, 133(2): 279-291.
- [22] 王姝,王晶,胡宇驰.逐瘀通脉胶囊对脑缺血再灌注大鼠学习记忆能力的影响[J]. *西北国防医学杂志*, 2018, 39(2): 82-86.
- [23] 廖芷吟,赵柯湘,肖谦.白藜芦醇对老年大鼠骨骼肌力量及肌原纤维结构的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2017, 37(10): 1405-1409.
- [24] 王荣亮,刘小蒙,张莹,等.大鼠局灶性脑缺血后神经功能评分与脑梗死体积相关性分析[J]. *首都医科大学学报*, 2013, 34(1): 69-74.
- [25] 王晓茹,杜云广,颜娟,等.荜苈茎对脑缺血再灌注大鼠的神经保护作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(5): 565-568.
- [26] Wang H L, Liu F L, Li R Q, et al. Electroacupuncture improves learning and memory functions in a rat cerebral ischemia/reperfusion injury model through PI3K/Akt signaling pathway activation [J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(6): 1011-1016.
- [27] 缪培,张通,米海霞,等.不同线栓法复制局灶性脑缺血模型大鼠恢复期学习记忆能力的差异及其机制[J]. *中国康复理论与实践*, 2022, 28(7): 789-796.
- [28] Liu J, Li C, Peng H, et al. Electroacupuncture attenuates learning and memory impairment via activation of  $\alpha 7nAChR$ -mediated anti-inflammatory activity in focal cerebral ischemia/reperfusion injured rats [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(2): 939-946.
- [29] Sachdev P S, Brodaty H, Valenzuela M J, et al. Progression of cognitive impairment in stroke patients [J]. *Neurology*, 2004, 63(9): 1618-1623.
- [30] Chavez L M, Huang S S, Macdonald I, et al. Mechanisms of acupuncture therapy in ischemic stroke rehabilitation: A Literature Review of Basic Studies [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11): 2270-2283.
- [31] 张雨晨,肖益,陈绪清,等.菱角壳水提物对小鼠抗疲劳及耐缺氧作用的实验研究[J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2016, 30(2): 93-95.
- [32] Benassi B, Fanciulli M, Fiorentino F, et al. c-Myc phosphorylation is required for cellular response to oxidative stress [J]. *Mol Cell*, 2016, 21(4): 509-519.
- [33] 杨梦,兰岚,韦静,等.草果、菱角壳水提混合物对小鼠急性酒精肝损伤的保护作用[J]. *中国中医急症*, 2020, 29(1): 22-24, 28.