维普资讯 http://www.cqvip.com



文章编号:0253－3626(2005)02－0228－04

# 大鼠脑缺血后$^1$H 磁共振波谱分析的实验研究

周仁兰，谢 鹏

(重庆医科大学临床学院神经内科，重庆 400016)

【摘 要】目的：$^1$H 磁共振波谱($^1$HMRS)分析大鼠大脑中动脉梗塞后 1 周脑内代谢物的动态变化，并随访 2 个月。方法：18 只 Wistar 大白鼠随机分为正常对照组，假手术组和永久性脑缺血组，每组各 6 只。脑缺血组右侧颈内动脉栓塞制作永久性脑缺血模型。采用$^1$H 磁共振波谱($^1$HMRS)于脑缺血后 30min、1、3、6、12、24h、3、7、15d、1、2 月对梗塞区域和对侧半球相应区域进行代谢物的波谱分析。结果：正常对照组和假手术组双侧代谢物无异常改变，分布对称($P>0.05$)；脑缺血组梗塞区与对照区 N－乙酰基天门冬氨酸(N－acetyl－aspartate，NAA)，胆碱(choline，Ch)和肌酸(creatine，Cr)均于脑缺血后 30min 开始升高，3～6h 后逐渐降低，但梗塞区与对照区 NAA，Ch 和 Cr 没有显著性差别($P>0.05$)，24h 双侧 NAA 达最低水平，Ch 和 Cr 于 3 天后降到最低，随缺血时间的延长，NAA，Ch 和 Cr 逐渐增加，尤其是 NAA 增加最明显，2 个月时 NAA 较 24h 增加 2.5 倍($P<0.01$)。患侧最早于脑缺血后 10min 检测到乳酸(lactate，Lac)，随后 Lac 持续增加 3 天后开始降低。随访中未发现 Lac 再次升高。结论：(1)$^1$H MRS 能及早反映动物脑缺血后脑内代谢物的改变。(2)$^1$HMRS 能客观反映脑缺血慢性期脑内代谢物的异常，为临床评价脑保护药物疗效提供重要信息。

【关键词】脑缺血；大脑中动脉梗塞；$^1$H 磁共振波谱

【中国图书分类法分类号】R743.33 【文献标识码】A 【收稿日期】2004－09－24

# An experimental research in rat model of middle cerebral artery occlusion using $^1$H MRS

*ZHOU Renlan, et al*

(*Department of Neurology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the metabolic dynamic changes in rat model of permanent middle cerebral artery occlusion(MCAO) within one week, followed up for two months with $^1$H MRS. *Methods*: A total of 18 rats were randomized into three different groups, the normal($n=6$), the sham－operated($n=6$) and cerebral ischemic group ($n=6$). A rat model of permanent MCAO was induced by occluding the right middle cerebral artery. $^1$H MRS was performed within the area of cerebral infarction and the homologous area of the contralateral hemisphere at the following time points: 30min, 1, 3, 6, 12, 24h, 3, 7, 15d, 1 and 2months after cerebral ischemia. *Results*: In the normal and the sham－operated group, bilateral metabolites were symmetrically distributed, no significant differences in NAA, Ch and Cr concentration were found between two hemispheres($P>0.05$). The marked increase in NAA, Ch and Cr was recognizable in bilateral spectra 30min after cerebral ischemia and sustained up to the period of 3－6hours, there was no significant difference in NAA, Ch and Cr concentration between two hemispheres($P>0.05$). NAA reached the lowest level at 24hours and Ch and Cr at 3days, and then NAA, Ch and Cr gradually increased with time. The increase in NAA was especially obvious which increased by 1.5 times at 2 months than that at 24hours after cerebral ischemia. The earliest detection of lactate was at 10 minutes within the infarct. The lactate concentration elevated and peaked at 12 hours, and a partial recovery of the reduction of lactate was seen at 3 days. However, the elevation in lactate was no longer observed during the period of up to 2 month follow－up. *Conclusion*: (1)$^1$HMRS can early detect the metabolite changes induced by middle cerebral artery occlusion in rats. (2). Abnormalities in chronic stage of cerebral ischemia in rats could also be found and gave important information for evaluating neuroprotective strategies.

【Key words】Cerebral ischemia; Middle cerebral artery occlusion; $^1$H magnetic resonance spectroscopy

作者介绍：周仁兰(1969－ )，女，主治医师，主要研究方向：脑血管疾病。

$^1$H 磁共振波谱($^1$H Magnetic Resonance Spectroscopy，$^1$HMRS)检查是在 MRI 定位的基础上将功能检查与影像学检查相结合，利用原子核的化学

维普资讯 http://www.cqvip.com



位移分析分子结构，是唯一可进行连续动态观察在体细胞代谢变化的非创伤性技术[1]。目前$^1$HMRS对检测脑缺血代谢物的报道较多，然而动物与人体的$^1$HMRS分析结果存在着较大的差异[2]，这是由于人体卒中受到各种因素的影响往往要延迟到数天甚至更长时间才能做MRS分析，与动物开始做MRS的时间不一致。目前动物$^1$HMRS分析多是研究脑缺血急性期代谢物的变化，尤其是对缺血性半暗带的观察，对脑缺血长时间代谢物的变化报道较少，因此我们通过$^1$HMRS动态观察大鼠永久性脑缺血后一系列生化代谢的改变，揭示大鼠脑缺血发生，发展的动态过程。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物分组

成年Wistar(大鼠由重庆医科大学动物实验中心提供)，体重180～210g，雌雄不限，随机分为正常对照组，假手术组和脑缺血组，每组6只。

### 1.2 脑梗塞动物模型的制备

采用右侧颈内动脉插线法栓塞右侧大脑中动脉(MCA)起始部。术前禁食12h，10%水合氯醛(3.0mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠，颈部正中切开皮肤逐层分离，暴露并结扎右侧颈总动脉和颈外动脉，栓塞线由距颈总动脉分叉约5cm插入到大脑中动脉的起始处，结扎颈内动脉固定栓塞线，实验中维持大鼠正常体温。假手术组栓塞线仅插入颈内动脉未深及大脑中动脉的起始处，对照组麻醉后不作任何处理。

### 1.3 $^1$H MRS检查

缺血组、假手术组和对照组大鼠在下述相应的时间点检查，检测过程中维持动物体温。用GE signa Highspeed MRI 1.5T超导磁共振波谱仪，3英寸表面线圈于术后30min、1、3、6、12、24h、3、7、15d、1、2月做$^1$HMRS检查。先后行磁共振扫描(MRI)快速自旋回波$T_2$加权成像($T_2$WI)(TR 3600ms，TE 115.2ms，层厚3mm，间隔1mm，FOV 8×8，矩阵320×224)，弥散加权成像(DWI)：采用单次激发平面回波成像序列(single－shot echo planar imaging，SE－EPI)(TR＝5000ms：TE＝100ms，层厚3mm，间隔1mm，FOV 24×24，矩阵128×128，扫描时间40s)以及$^1$H MRS(TR＝3600ms，TE＝144ms，层厚3mm，间隔1mm，FOV 12×12cm，矩阵24×24，扫描时间9.4min)。Probe 2000多体素$^1$H MRS软件包，每次$^1$H MRS检测前先匀场，并进行抑水及抑脂处理。磁共振成像检查顺序：每个时间点先获取DWI图像，DWI高信号区定为梗塞区，将MRS兴趣区放在梗塞区及其对侧镜像区，进行MRS测定。获取数据转入工作平台，经Functool 2000软件包处理，得到大鼠化学位移为$1.33\times10^{-6}$的乳酸(Lac)，$2.02\times10^{-6}$的N－乙酰天门冬氨酸(NAA)，$3.23\times10^{-6}$的胆碱(Ch)，$3.04\times10^{-6}$的肌酸(Cr)及$1.33\times10^{-6}$的脂肪(Lipid)代谢图及代谢峰值，乳酸(Lac)及脂肪(Lipid)值以LL表示，其中乳酸特征性的波峰呈巨大倒置的双峰[12]。(图1)

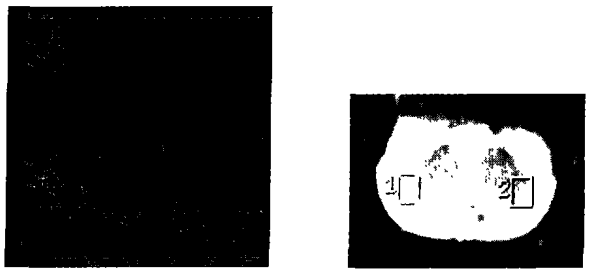


**图1 大鼠脑缺血后波谱分析及其定位区域**

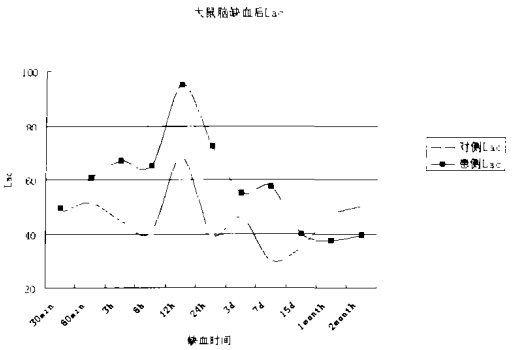



**图2 脑缺血后Lac的代谢图**

### 1.4 统计学方法

每只实验动物，每个时间点，每个区域代谢物的值来自梗塞区测定的值。各时间点的数据采用均数$\bar{x}\pm s$表示，统计学分析比较采用两样本均数的$t$检验，$P<0.05$被认为差异有显著性。统计软件使用SPSS12.0统计分析程序包。

## 2 结 果

### 2.1 对照组

正常对照组双侧代谢物分布基本对称，NAA，Ch和Cr统计学分析无显著差异($P>0.05$)，假手术组两侧NAA，Ch和Cr也没有显著差异($P>0.05$)，无Lac产生。

### 2.2 脑缺血组

所有实验结果见表1。

Lac：缺血组最早于脑缺血后10min检测到患侧出现Lac，随缺血时间的推移，梗塞区与对应区Lac均持续增加到1天以上，12h达高峰，3天后开始减少，15天后明显减少，与对应区相比，梗塞区Lac明显高于对侧($P<0.01$)。在随访中Lac没有再次升高($P<0.01$)。实验中我们多次发现脑缺血后24h内双侧Lac同时升高，而且患侧Lac明显低于对侧，24h后患侧Lac逐渐高于对侧(图2)。

维普资讯 http://www.cqvip.com



梗塞区与对应区 Ch 和 Cr 均于脑缺血后 30min 开始升高，Ch 于 3h 升至最高，但两侧的 Ch 值没有显著性差异($P>0.05$)，3h 后 Ch 开始降低。6h 后 Cr 也升至最高，但两侧的 Cr 值也没有显著性差异($P>0.05$)，随后 Cr 降低。梗塞区与对应区的 Cr 和 Ch 均于 3 天降到最低，而 Cr 降低幅度更大约为 50%(134/69.33)，Ch 约为 30%(137.32/93.8)，7 天时稍有回升后再次于 15 天回落，以后随访的 2 个月中 Ch 和 Cr 持续升高。但患侧 Ch 和 Cr 始终低于对侧($P<0.01$)，图 3 和 4。

**表 1 局灶性脑缺血后代谢物的变化**

| 缺血时间 | 患侧 | | | | 对侧 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | LL | Ch | Cr | NAA | LL | Ch | Cr | NAA |
| 正常对照组 | 45.3±0.07 | 113.00±0.21 | 63.00±0.46 | 66.00±0.18 | 46.00±0.12 | 114.00±0.02 | 64.00±0.01 | 66.30±0.14 |
| 假手术组 | 45.10±0.09 | 112.00±0.04 | 64.70±0.13 | 65.00±0.07 | 45.86±0.08 | 113.00±0.08 | 63.00±0.05 | 65.90±0.04 |
| 缺血组 | | | | | | | | |
| 30min | 49.50±0.23 | 102.00±0.33 | 55.50±0.08 | 66.5±0.22 | 48.00±0.11 | 110.50±0.09 | 64.00±0.01 | 67.00±0.05 |
| 0min | 60.50±0.02 | 115.10±0.04 | 95.80±0.31 | 78.44±0.01 | 51.20±0.38 | 118.00±0.11 | 100.00±0.04 | 79.78±0.28 |
| 3h | 66.83±0.43 | 137.32±0.05 | 120.55±0.14 | 113.78±0.27 | 44.55±0.35 | 142.00±0.31 | 125.44±0.22 | 114.44±0.08 |
| 6h | 65.28±0.51 | 110.80±0.01 | 111.13±0.44 | 109.35±0.33 | 40.64±0.12 | 137.82±0.06 | 136.90±0.07 | 135.68±0.03 |
| 12h | 95.25±0.76 | 105.00±0.22 | 134.00±0.13 | 54.00±0.01 | 68.25±0.41 | 122.00±0.23 | 147.00±0.06 | 69.50±0.02 |
| 24h | 72.38±0.06 | 94.55±0.24 | 91.13±0.02 | 45.21±0.37 | 39.73±0.26 | 109.76±0.43 | 105.10±0.05 | 81.36±0.04 |
| 3d | 55.00±0.24 | 93.80±0.56 | 69.33±0.04 | 69.33±0.14 | 46.00±0.61 | 102.75±0.08 | 73.00±0.01 | 73.00±0.21 |
| 7d | 57.50±0.09 | 130.25±0.37 | 125.00±0.32 | 96.00±0.21 | 30.00±0.23 | 139.25±0.14 | 136.50±0.05 | 97.50±0.05 |
| 15d | 39.78±0.36 | 102.45±0.27 | 83.87±0.51 | 72.50±0.44 | 34.85±0.69 | 118.75±0.07 | 113.17±0.11 | 96.96±0.36 |
| 1month | 37.26±0.39 | 137.31±0.03 | 92.81±0.09 | 92.89±0.21 | 46.74±0.63 | 153.72±0.15 | 135.32±0.04 | 102.47±0.04 |
| 2month | 39.33±0.57 | 169.33±0.65 | 117.00±0.24 | 112.00±0.03 | 50.33±0.31 | 187.33±0.04 | 140.00±0.08 | 151.33±0.11 |

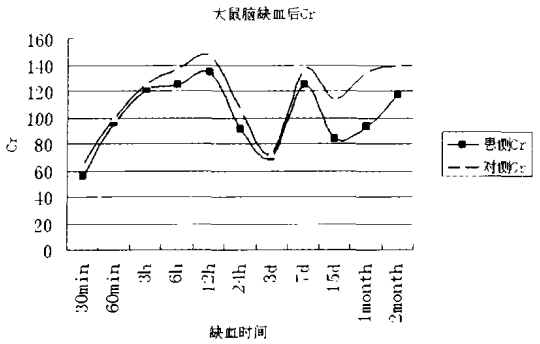



**图 3 脑缺血后 Cr 的代谢图**

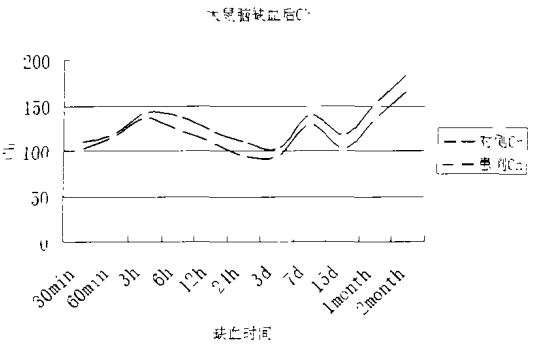



**图 4 脑缺血后 Ch 的代谢图**

梗塞区与对侧对应区脑缺血后 30min NAA 逐渐增加，于 6h 达最高，但两侧的 NAA 值没有显著性差异($P>0.05$)，6h 后两侧的 NAA 显著降低，24h 内梗塞区 NAA 降低幅度最大，约减低到对侧的一半($P<0.01$)，以后两侧 NAA 逐渐增加但患侧始终低于对侧，2 个月时梗塞区 NAA 值较 24h 时 NAA 值约增加 2.5(113.78/45.21)倍(图 5)。

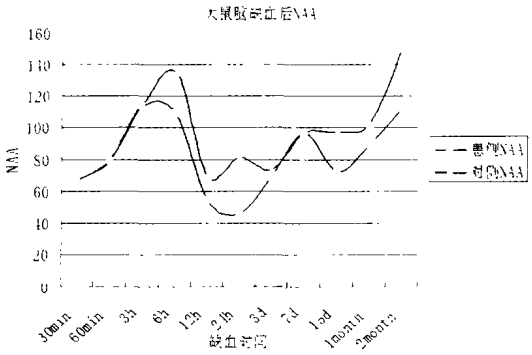



**图 5 脑缺血后 NAA 的代谢图**

## 3 讨 论

### 3.1 Lac

[1]HMRS 动态检测大鼠永久性脑缺血 1 周内代谢物的变化并随访 2 个月，发现 Lac 最早于脑缺血后 10min 出现，比大多数文献报道的时间更早，这可能是大鼠动脉栓塞完全引起脑缺血程度较重所致。文献报道梗塞早期 Lac 的水平和解剖学上的分布与

维普资讯 http://www.cqvip.com



缺血的范围,神经损伤程度和持续时间有关[2],它反映了神经功能情况,与脑水肿无关[3,4]。随着脑缺血程度的加重,Lac 持续增加,于 12h 达高峰,并持续到脑缺血后 1 天以上,3 天后 Lac 开始减少,这与文献报道基本一致。临床研究显示广泛性脑梗塞后数月 Lac 增加[5],亦有报道动物脑缺血后 3 周 Lac 增加,而我们随访 2 个月未发现 Lac 再次升高,此现象值得今后进一步研究。Lac 是早期缺血的敏感指标,脑梗塞早期神经组织缺血产生 Lac,它一般出现在脑梗塞的同侧,但检测到 Lac 并不预示着一定要出现梗塞,有时非梗塞区域也可检测到 Lac 的存在[6],实验中我们多次发现脑缺血 24h 内双侧 Lac 升高,而且患侧 Lac 明显低于对侧,24h 后患侧开始高于对侧。另有报道人体中风和脱髓鞘疾病对侧大脑半球出现 Lac 波峰,动物模型实验证实这些信号源于移动的蛋白质,可能是梗塞区细胞降解后细胞膜的脂质或者头皮脂肪组织污染在 MRS 上的反应[7]。

3.2 NAA

NAA 几乎仅存在于成熟脑组织的神经细胞里,在脑缺血,癫痫,帕金森病,多发性硬化等疾病时相应的神经元丢失引起 NAA 减少,故认为 NAA 是研究神经病理状态的生化标志。动物脑缺血后 6h NAA 明显下降,12h 下降至对侧的 20%。我们的结果与此基本一致。NAA 降低可能为早期神经元死亡的标志,预示脑组织坏死而存活的神经元数量减少。但急性脑损伤时,若把 NAA 看成是神经元的标志会错误地低估神经元损伤的区域,因为组织正在形成梗塞时会阻碍 NAA 的消失;仅仅只有脑功能失调而没有神经元死亡也可引起 NAA 的显著丢失[8]。同样,在脑缺血的恢复期若把 NAA 看作神经元的特殊标志也存在问题。脑缺血初期,NAA 显著降低,随着缺血时间延长,梗塞灶内的 NAA 逐渐恢复[9]。研究结果也支持这一观点。有报道 NAA 随缺血时间的延长而逐渐恢复可能是由于非神经元如反应性星型胶质细胞产生 NAA 和/或 NAAG 所致。首先,反应性星型胶质细胞具有表达 NAA 的能力。缺血 8h 后梗塞边缘发现大量反应性星型胶质细胞,缺血 30 天梗塞中心也出现反应性星型胶质细胞,而且 NAA 免疫反应明显地观察到梗塞灶周围 NAA 大量反应性增加,NAA 增加的区域反应性星型胶质细胞也增加[8]。其次,NAA 的产生可能来自梗塞灶中心胶质细胞分泌的 NAAG。最后,梗塞灶内出现 NAA 有可能是来自于梗塞灶周围浸润到梗塞灶的 NAA。但也有人认为梗塞灶内 NAA 增加是假象[9],因为环境的改变使受限制的分子的移动性在$^1$H MRS 上的信号受到影响。脑梗塞慢性期 NAA 大量增加可能是来自小梗塞灶周围 NAA 的污染,另外也可能是梗塞灶存在 NAA 的浓度梯度。其它非神经元细胞如少突胶质细胞含有 NAA,但脑缺血后它的影响非常小;神经胶质增生如脑膜细胞,少突胶质细胞前体,多向祖细胞等,它们产生的影响不是主要的[10]。

3.3 Ch 和 Cr

研究发现脑缺血后 30min 梗塞区与对应区 Ch 和 Cr 开始升高,Ch 于 3h 升至最高,两侧的 Ch 值没有显著性差异,随后 Ch 降低。6h 后双侧 Cr 也升至最高,两侧的 Cr 值也没有显著性差义,以后 Cr 降低。NAA 也呈现梗塞区与对应区并行的先升高后降低的类似的变化。对于此现象的报道较少,这可能是一种假象,其变化没有任何意义,或者是急性脑功能障碍引起全脑的一种应激反应。Ch 为磷酸脂的代谢产物,主要存在于细胞膜上,它反应了细胞膜合成和细胞间连结的变化;Cr 代表肌酸,是能量代谢变化的重要指标,有报道脑缺血后 Ch 和 Cr 升高可能与细胞溶解后细胞膜降解有关[7],二者在脑缺血慢性期升高用细胞膜的降解很难解释,另有人认为 Ch 和 Cr 增高是由于星型胶质细胞增生密度增加以及神经元丢失脑组织萎缩所致,也可能与星型胶质细胞形态改变有关[10]。

本实验仅是初步报告,要准确的揭示大鼠永久性脑缺血代谢物的变化过程,还有待于进一步做大样本的波谱分析,必要时可进行同步血电解质和血气的分析。

(通信作者:谢鹏:重庆医科大学临床学院神内科,重庆 400016)

## 参 考 文 献

[1] Joanna MW, Ian Marshall, Jim Wild, et al. Studies of Acute Ischemic Stroke with Proton Magnetic Resonance Spectroscopy[J]. Stroke, 1998;29:1618 - 1624.

[2] MW FRACP, Li T, Barber PA, et al. Combined 1H MR Spectroscopy and Diffusion - Weighted MRI Improves the Prediction of Stroke Outcome Parsons[J]. Neurology, 2000;55(4):498 - 506.

(下转第 299 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com



平较高,而在调节 TG 水平上胰岛素和体脂起着一个重要作用,这与国外报道一致[11]。另一方面,尽管 PCOS 组有更低的血清 HDL-c 水平,但在肥胖组和非肥胖组中差别不大。

综上,与有正常月经周期和雄激素水平的健康妇女比较,PCOS 妇女血清 FFAs 水平显著增高,并且 FFAs 升高与血清游离睾酮水平升高有关。二者可能共同加重了 PCOS 患者的胰岛素抵抗和高胰岛素血症。

## 参 考 文 献


[1] Fernando Ovalle, Ricardo Azziz. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus[J]. Fertility and sterility, 2002, 77: 1095-1105.

[2] Abadie JM, Malcom GT, Porter JR, et al. Can associations between free fatty acid levels and metabolic parameters determine insulin resistance development in obese Zucker rats[J]? Life-Sci, 2001; 69: 2675-2683.

[3] 刘秀容,李启富,程庆丰,等.两步法高胰岛素-正葡萄糖钳夹技术的应用及护理[J].重庆医学,2004;33:1751-1752.

[4] 汪志红,李启富,张素华,等.高胰岛素-正葡萄糖钳夹技术的建立[J].重庆医科大学学报,2004,29:615-617.

[5] McKenna TJ: Pathogenesis and treatment of Polysystic ovary syndrome[J]. N Engl J Med, 1998; 318: 558-562.

[6] 罗四川,李启富,刘红梅.清醒状态大鼠高胰岛素-正常血糖钳夹术的建立及其意义[J].重庆医科大学学报,2004;29:334-335.

[7] Holte J, Bergh T, Berne C. Restored insulin sensitivity but persistently increased early insulin secretion after weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1995; 80: 2586-2593.

[8] Reed MJ, Dunkley SA, Singh A, et al. The role of free fatty acids in regulating the tissue availability and synthesis of sex steroids[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 1993; 48: 111-116.

[9] Bjorntorp P. Metabolic implications of body fat distribution[J]. Diabetes Care, 1991; 14: 1132-1143.

[10] Mooradian AD, Pamplona DM, Viosca SP, et al. Effect of free fatty acids on the bioavailability of plasma testosterone and dihydrotestosterone[J]. J Steroid Biochem, 1988; 29: 369-370.

[11] Mario C, Anna M, Francesco C, et al. Impact of insulin and body mass index on metabolic and endocrine variables in polycystic ovary syndrome[J]. Metabolism, 1999; 48: 167-172.


(上接第 231 页)


[3] Federico F, Simone IT, Lucivero V, et al. Prognostic value of proton magnetic resonance spectroscopy in ischemic stroke [J]. Arch Neurol, 1999; 55: 489-494.

[4] Wei Jingna, Cohen David M., Quast Michael J, et al. Effects of 2-Deoxy-d-Glucose on Focal Cerebral Ischemia in Hyperglycemic Rats[J]. Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2003; 23(5): 556-564.

[5] Higuchi, Toshihiro, Fernandez, et al. Mapping of Lactate and N-Acetyl-L-aspartate Predicts Infarction during Acute Focal Ischemia: In Vivo $^1$H Magnetic Resonance Spectroscopy in Rats[J]. Neurosurgery, 1996; 38(1): 121-130.

[6] Floor C, Bakker, Catharina JM, et al. Cognitive Impairment Is Related to Cerebral Lactate in Patients With Carotid Artery Occlusion and Ipsilateral Transient Ischemic Attacks[J]. Stroke, 2003; 34: 1419-1424.

[7] Davie CA, Hawkins CP, Barker GJ, et al. Serial proton magnetic resonance spectroscopy in acute multiple sclerosis lesions[J]. Brain, 1994; 117: 49-58.

[8] Sager, Thomas Nikolaj, Laursen, et al. N-Acetylaspartate Distribution in Rat Brain Striatum during Acute Brain Ischemia[J]. Cerebral Blood Flow and Metabolism, 1999; 19(2): 164-172.

[9] Demougeot, Celine, Bertrand, Anne, et al. Reversible Loss of N-Acetyl-Aspartate in Rats Subjected to Long-Term Focal Cerebral Ischemia[J]. Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2003; 23(4): 482-489.

[10] Konaka, Kuni, Ueda, et al. N-Acetylaspartate to Total Creatine Ratio in the Hippocampal CA1 Sector After Transient Cerebral Ischemia in Gerbils: Influence of Neuronal Elements, Reactive Gliosis, and Tissue Atrophy[J]. Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2003; 23(6): 700-708.