论著

文章编号:1000-5404(2006)08-0826-02

舒降之降低颈动脉狭窄大鼠P300及血清IL-6,CRP水平的实验研究

冉 鸿,陈康宁,黄河清,段 炜,柳春雨 (第三军医大学西南医院神经内科,重庆 400038)

提 要:目的 建立双侧颈总动脉重度狭窄的血管性认知障碍大鼠模型,观察舒降之对其认知功能的改变及对血清中IL-6,CRP影响。**方法** 用正常SD大鼠制作重度颈动脉狭窄模型后,分为舒降之治疗和生理盐水对照,2周后各组进行听觉事件相关电位(P300),血清IL-6,CRP测定。**结果** 舒降之治疗组大鼠P300潜伏期明显小于对照组($P<0.01$)、治疗组血浆IL-6,CRP水平低于对照组($P<0.01$)。**结论** 舒降之可改善血管性认知障碍大鼠的认知功能,其作用机制可能与其抑制IL-6,CRP合成有关。

关键词:大鼠;颈动脉狭窄;认知;舒降之;炎症

中图法分类号:R543.4;R741.04;R972 **文献标识码**:A

Effect of Statins on serum IL-6 and CRP level in carotid artery stenosis rats

RAN Hong, CHEN Kang-ning, HUANG He-qing, DUAN Wei, LIU Chun-yu (Department of Neurology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To establish the rat models of severe carotid artery stenosis that leads to vascular cognitive impairment and to observe the effect of Statins on the cognitive function and the serum level of interleukin-6 (IL-6) and c-reaction protein (CRP). **Methods** Sixteen SD rats were randomly assigned to receive intragastric administration of Statins or physiologic saline after rat models of severe carotid artery stenosis by ligating two common carotid arteries were established. Two weeks later, the cognitive ability was determined by P300 test and the serum level of IL-6 and CRP were measured with ELISA. **Results** The P300 latency and the serum level of the Statins group was significantly decreased as compared with the control group (both $P<0.01$). **Conclusion** Statins can improve the cognitive functive of rat with carotid artery stenosis, perhaps by inhibiting inflammation.

Key words: rat; carotid artery stenosis; cognition; Statins; inflammation

Rockwood等[1]研究表明,血管性认知障碍患者5年后死亡率比正常人高,有认知功能损害的脑血管病比无认知功能损害者预后差;认知损害越重,存活时间越短。因此,为了提高脑血管病患者的生活质量、延长其寿命,必须对血管性认知障碍进行早期干预和治疗。舒降之是羟甲基戊二酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶抑制剂,一种高效低毒的降脂药,近年来的研究表明舒降之还有其他多种非抗脂作用,其中抗炎机制是研究的热点。Rockwood等[2]比较了加拿大健康与老化研究(Canadian study of health and aging, CSHA)中心的492例痴呆和823例对照者发现,在排除选择偏倚后,使用舒降之与痴呆发病风险降低之间依然具有相关性。本实验通过舒降之干预血管性认知障碍大鼠,并检测其血清IL-6, C反应蛋白(creactive protein, CRP)相关炎症指标,以了解其抗炎机制。

作者简介:冉 鸿(1972-),女,重庆市人,硕士研究生,主治医师,主要从事血管性痴呆的发病机制和临床治疗相关方面的研究。电话:13452848081,E-mail:ranhong0424@yahoo.com.cn

通讯作者:陈康宁,电话:(023)68765253,E-mail:ckn_640827@126.com

收稿日期:2006-02-02;修回日期:2006-03-27

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用健康成年SD大鼠16只,体质量(250±25)g,雌雄对半,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。置于24~25 ℃室温中喂养,雌雄分笼,每笼6~8只,给予固体颗粒饲料喂养,自由饮水。16只SD大鼠行颈动脉重度狭窄动物模型制作后分成2组,A组予舒降之治疗,B组为生理盐水对照组,每组8只。

1.2 主要试剂及仪器

舒降之片剂,40 mg/片,美国默沙东公司生产。丹麦产Medtronic型诱发电位仪。IL-6检测:酶联免疫吸附法(ELISA)(购自北京晶美生物试剂公司),CRP检测酶联免疫吸附法:(ELISA),采用美国BPB公司生产的Rat-CRP-ELISA(购自大连泛邦生物试剂公司)。

1.3 方法

1.3.1 模型制作 参照周振华等[3]的重度颈动脉狭窄动物模型制作方法并加以改进。术前将手术缝线用地塞米松浸泡10 min。用乙醚麻醉大鼠,固定于手术台上,术中乙醚维持,颈正中去毛,碘酒乙醇消毒后,行颈正中切口。显露并游离双侧颈总动脉,在颈总动脉近心侧距颈内动脉和颈外动脉分叉处约1.5 cm处用0号手术缝线将颈总动脉和直径0.45 mm的注射

器针头一并仔细扎紧，丝线打成活结，然后小心拔出针头，青霉素（溶于生理盐水中）滴于手术野中。

1.3.2　药物治疗　　成模第 2 天药物治疗组的大鼠每天按 5 mg/kg 舒降之悬浮于 10% 甘油中灌胃给药，每日 1 次，连续 2 周。对照组用等量生理盐水灌胃，每日 1 次，连续 2 周。

1.3.3　事件相关诱发电位中 P300 的检测　　将大鼠固定在立体定位仪上，剃除耳后、头顶部及尾根部毛，乙醇消毒皮肤。用 3.3 cm 毫针刺入至矢状缝与两外耳道连线交点头皮下，斜向前约 0.5 cm 接记录电极；分别于双耳乳突部刺入 3.3 cm 毫针，并连接参考电极；地线接 3.3 cm 毫针刺入鼠尾根部。双耳通过隔音音罩接受听觉信号，叠加次数 300 次，分析时间 800 ms。刺激信号为高、低两种频率不同的短声。其中靶刺激为无规律随机出现的频率为 2 kHz 的高频短声，出现概率为 15%，频率为 1 Hz 的低频短声为非靶刺激。每次记录的 P300 波形和分析观察的指标均显示在计算机屏幕上，游标指示自动分析结果。所有大鼠均在 A 组治疗 2 周后进行检测。

1.3.4　血液检测　　将行 P300 检测后的大鼠用水合氯醛腹腔深麻醉，迅速从左心室抽取血液离心，将血清严格按照试剂盒说明操作测定血清 IL-6 含量。血 CRP 测定严格按照试剂盒说明操作，使用上海二科仪器有限公司产 3 酶标仪检在波长 450 nm 下测定其吸光度，用 CurveExpert 1.3 软件绘制标准曲线并计算出血浆 CRP 含量。

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 12.0 统计软件进行 t 检验和相关分析。

2　结果

2.1　治疗 2 周后两组大鼠 P300 的变化

舒降之治疗组大鼠 P300 潜伏期为（345.55 ± 8.8）ms，较对照组[（381.7 ± 7.1）ms]明显缩短（$P < 0.01$）。

2.2　治疗 2 周后治疗组血清 IL-6，CRP 水平

治疗 2 周后治疗组血清 IL-6（40.20 ± 7.96）pg/ml，CRP（10.1 ± 1.1）mg/L 水平低于对照组（$P < 0.01$）。

2.3　大鼠 P300 与大鼠血清 IL-6，CRP 水平相关性分析

舒降之治疗组大鼠治疗后 P300 与大鼠血清 IL-6 正相关（$r = 0.921$，$P < 0.01$）。舒降之治疗组大鼠治疗后 P300 与大鼠血清 CRP 正相关（$r = 0.916$，$P < 0.01$）。

3　讨论

周振华等[3]的重度颈动脉狭窄动物模型制作方法已证实能成功制成血管性认知障碍的大鼠。P300 潜伏期延长，反映了认知功能障碍[4]。本实验应用 P300 来测试大鼠颈动脉重度狭窄后认知功能的改变，治疗组较对照组大鼠 P300 潜伏期明显缩短，从而证明舒降之能改善认知障碍大鼠的认知功能。治疗组大鼠血清 IL-6 与 CRP 低于对照组，二者之间存在显著差异。从舒降之治疗组大鼠治疗后 P300 与大鼠，CRP 血清 IL-6，CRP 水平成正相关（$P < 0.01$），说明舒降之改善大鼠认知功能可能与其降低 IL-6 与 CRP 水平相关。

炎症反应在急性脑缺而后继发性神经元损伤中起重要作用，除了早期神经元损伤引起兴奋性氨基酸的释放、钙内流和超载、脂质过氧化、神经元凋亡外，还产生黏附分子和细胞因子，使缺血损伤向炎症损伤转变，促进继发性脑损伤，血管内皮细胞、星形细胞和血管周围的炎性细胞被激活，释放细胞因子 IL-1β 和 TNF-α，触发炎症反应，进而促使 IL-6 释放，IL-1β，TNF-α，IL-6 刺激肝脏和上皮细胞合成 CRP[5]。IL-6 是一种与中枢神经系统缺血相关的重要炎症反应分子，IL-6 mRNA 和 IL-6R mRNA 在中枢神经系统的海马结构（CA1-CA2 ，CA3 和 CA4 区）和齿状回均有分布[6]，而海马和齿状回是认知功能的重要解剖结构，IL-6 致诱导最初的炎性免疫瀑布，诱使化学趋化因子的表达，进一步在病灶区域募集大量炎性细胞，进行局部炎性反应，导致神经元损伤认知功能下降。CRP 在转录水平上由 IL-6 调节合成，CRP 的升高是体内“瀑布式”炎症反应中的一个环节，反过来可刺激 IL-6 的合成，形成 CRP 与 IL-6 之间的恶性循环。

近年来舒降之的非降脂作用相继被发现，它可以改善内皮功能，有抗炎症反应，脂质核的去除和斑块生理化学特性的稳定，加强纤维帽，抑制血小板血栓形成和沉积，减少血栓形成的反应等作用。现在研究表明舒降之既可明显抑制 IL-6 的血清浓度[7]，又可抑制 CRP 诱导血单核细胞合成 IL-6[8]，阻断两者之间的级联放大效应，减轻了脑缺血后神经元，从而可能改善大鼠的认知功能。

本实验表明舒降之可改善血管性认知障碍大鼠的认知水平，这可能与其抑制 IL-6，CRP 合成有关。

参考文献：

[1] ROCKWOOOD K, HOWARD K, MACKNIGHT C, *et al*. Spectrum of disease in vascular cognitive impairment [J]. Neuroepidemiology, 1999, 18(5): 248 - 254.

[2] ROCKWOODK, KIRKLAND S, HOGAN D B, *et al*. Use of lipid-lowering agents indication bias, and the risk of ementia in conunmuty-dwelling elderly people[J]. Arcb Neurol, 2002, 59: 223 - 227.

[3] 周振华，陈康宁，周　宇，等. 可控制狭窄程度的鼠颈动脉狭窄模型建立及认知功能改变[J]. 中国临床康复，2005，8(28)：6052 - 6054.

[4] RUSHBY J A, BARRY R J, JOHNSTONE S S. Event-related potential correlates of serial-position effects during an elaborative memory test [J]. Int J psychophysiol, 2002, 46(1): 13 - 27.

[5] 高天理，张　茁. 超敏 C 反应蛋白在急性缺血性卒中中的应用[J]. 北京医学，2005，4 (28)：195 - 197.

[6] 肖　岚. 白介素-6 与脑缺血损伤[J]. 国外医学：神经病学神经外科学分册，2000，27(5)：258 - 261.

[7] 陈卫兵，蒲　红，黄丽娜. 早期应用辛伐他汀治疗急性冠状动脉综合征临床观察及对炎症因子的影响[J]. 东南国防医药，2003，5(5)：330 - 332.

[8] 陈学军，李建军，夏　泠，等. 辛伐他汀对 C 反应蛋白和脂多糖诱导的单核细胞合成白细胞介素 6 的影响[J]. 中国动脉硬化杂志，2003，11(2)：139 - 142.

（编辑　汪勤俭）