

“脑还丹”对老龄去势大鼠血清 IGF- I 和血脂水平的影响¹

程志安¹, 李庆明¹, 曾志勇¹, 谢文峰², 李红毅²

(1 中山大学孙逸仙纪念医院, 广州 510120; 2 广州中医药大学附二院, 广州 510120)

摘要: 为了探讨“脑还丹”防治神经原退行性变的机制, 本文从血清 IGF- I 和血脂的变化观察了该方对老龄去势大鼠(肾虚模型)的病理生理影响。结果表明, “脑还丹”能显著降低卵巢结扎大鼠 LDL-c 和 TC 的血清浓度, 高剂量可显著提高 HDL TG 和血清 IGF- I 的水平。说明“脑还丹”保护神经原的作用是通过调节血脂及 IGF- I 水平等途径实现的。

关键词: 胰岛素样生长因子; 血脂; 脑还丹

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)01-0038-03

The Influence of Naohuadan on the Level of Serum IGF- I and Lipoprotein Metabolism in the Ovariectomized Rat

CHENG Zhi-an, LI Qing-ming, ZENG Zhi-yong, XIE Wenfeng, LI Hong-yi
(Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: The research focus on the influence of Naohuandan on the level of serum insulin-like growth factor- I (IGF- I) and lipoprotein metabolism in order to determine the mechanism of the recipe on neurodegeneration in the ovariectomized rats. The results show that the total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol of Naohuandan groups were significantly lower than that of control group; triglycerides, and high-density lipoprotein cholesterol and serum IGF- I of the recipe were significantly higher than that of control group. IGF- I between the control group and conjugated estrogen group had significant difference. The results indicate that Naohuandan could effectively regulate the metabolism of lipoprotein and serum IGF- I to protect the neurons.

Key words: Insulin-like Growth Factor- I ; Lipoprotein; Naohuandan

“脑还丹”由骨碎补, 熟地等组成, 具有补肾填精, 活血通络, 平衡阴阳, 调和气血的功效。是李庆明教授根据自己长期的临床实践经验, 在古方记载有抗老防衰作用的“草还丹”的基础上^[1], 加减组成, 临床经验表明该方对肾虚型老年性疾病具有良好的疗效^[2]。我们的研究表明, “脑还丹”和雌激素一样能防止卵巢结扎大鼠的海马 CA3 区及皮质神经原内线粒体等细胞器的变性、坏死、突触变性以及脂褐素堆积, 促进神经原结构和突触密度的恢复(另文报道)。为了进一步探讨“脑还丹”的作用机制, 本研究从血清 IGF- I 和血脂的变化观察该方对老龄去势大鼠肾虚(雌激素缺乏)模型的病理生理影响。

1 材料

“脑还丹”由骨碎补 15g, 熟地 25g, 云苓 20g, 菖蒲 10g, 远志 8g 等药组成(原料购自广州市中药材公司), 由孙逸仙纪念医院中药制剂室制剂。文火水煎 2h, 重复三次, 将三次所得药液混合后浓缩至浓度为 10g/ml。

倍美力(共轭雌激素)由惠氏-立达(Wyeth-Lederle)中国有限公司(苏州)提供, 批号 9981395。戊巴比妥钠(上海行知化工厂, 批号 921019); 血脂、钙、磷、碱性磷酸酶检测试剂由孙逸仙纪念医院生化实验室统一购进(上海长征-康仁医学科学有限公司等提供)。大鼠 IGF- I RIA 试剂盒(Diagnostic Systems Laboratories, Inc. U SA 提供)。

实验动物 12 月龄 SD 大鼠, 重 250~ 300g, 由中山医科大学动物实验中心提供。合格证号: 2000 年粤检证字 00A005

实验仪器 F2~ 2008 型 γ 放射免疫计数器, 国

收稿日期: 2001-04-26

基金项目: 广东省中医药管理局科研基金资助课题(99557)

营西安262厂。

2 方法

大鼠肾虚模型的建立 十二月龄雌性SD大鼠,重200~300g。0.86%的戊巴比妥钠按体重43mg/kg腹腔注射麻醉后,按文献方法^[3],在无菌条件下,由背侧入路,摘除双侧卵巢。术后第1~2d腹腔注射青霉素常规抗感染治疗。术后两周开始喂药,180d处死大鼠。

实验动物分组 造模前称重,并随机将分实验大鼠分为空白对照组(OVX)、雌激素(倍美力)对照组(OVX+E)、“脑还丹”1~2组(N1~N2),共4组,每组10只大鼠。

灌胃剂量 造模后第2周开始喂药。“脑还丹”二个实验组分别按体重10g生药/kg,40g生药/kg灌胃,每日一次;空白对照组每日灌2mL生理盐水一次;雌激素组按体重0.125mg/kg灌胃,每日一次。连续给药6个月。实验期间大鼠均自由摄食和饮水。

大鼠血清的采集 乙醚麻醉后,由腹主动脉穿刺抽血,4℃冰箱内放置6h后,3000rpm离心。取血清,分装后低温冷藏以备检测。

血清IGF-I的放免检测 按试剂盒使用说明书进行。

血清生化指标的检测 用邻-甲酚酞络合酮(CPC)比色法测定血清钙(Ca),速率法(DGK)测定血清碱性磷酸酶(ALP),直接紫外法检测血清磷(P),血清总胆固醇(TC)、甘油三脂(TG)、高密度脂蛋白(HDL-c)和低密度脂蛋白(LDL-c)的检测采用终点法。

统计分析 各项实验数据均用SPSS9.0软件行方差分析,并用Newman-Keuls和Dunnnett's T3进行组间比较。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 实验结果

2.1 雌激素组、“脑还丹”1~2组大鼠TC较空白组显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),雌激素和“脑还丹”组间无显著性差异($P > 0.05$);(见表1)

2.2 雌激素组、“脑还丹”2组TG较空白对照组显著增高($P < 0.01$),“脑还丹”1组和空白对照组间无显著性差异($P > 0.05$);(见表1)

2.3 雌激素组、“脑还丹”2组HDL-c较空白对照组显著增高($P < 0.05$),“脑还丹”1组和空白对照组间无显著性差异($P > 0.05$);(见表1)

2.4 雌激素组、“脑还丹”1~2组大鼠LDL-c较空白组显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),雌激素和“脑还丹”组间无显著性差异;(见表1)

表1 实验后各组大鼠血脂比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-c(mmol/L)	LDL-c(mmol/L)
OVX	2.555 ± 0.390	0.46 ± 0.116	0.38 ± 0.012	1.76 ± 0.347
OVX+E	1.965 ± 0.331*	0.76 ± 0.197**	0.55 ± 0.118*	1.15 ± 0.404*
OVX+N1	1.656 ± 0.449**	0.56 ± 0.247	0.36 ± 0.079	1.06 ± 0.347**
OVX+N2	2.053 ± 0.325*	0.73 ± 0.220**	0.46 ± 0.059*	1.23 ± 0.250**

注:空白对照组比较* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$;(下同)

2.5 各组大鼠血清ALP、Ca及P比较均无显著性差异($P > 0.05$);(见表2)

表2 实验后各组大鼠血清钙、磷及ALP比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

ALP(U/L)	大鼠数	Ca ²⁺ (mmol/L)	P ³⁻ (mmol/L)
OVX	2.62 ± 0.38	2.51 ± 0.88	106.10 ± 39.15
OVX+E	2.75 ± 0.38	2.67 ± 0.99	116.60 ± 57.43
OVX+N1	2.35 ± 0.32	3.06 ± 1.12	93.10 ± 31.91
OVX+N2	2.39 ± 0.28	2.49 ± 0.69	91.60 ± 33.86

2.6 各组大鼠血清IGF-I比较,“脑还丹”1~2组较空白组和雌激素组显著增高($P < 0.05$);(见表3)

表3 实验后大鼠血清IGF-I水平的比较

组别	OVX	OVX+E	OVX+N1	OVX+N2
大鼠数	10	10	10	10
IGF-I(ng/ml)	253.79 ± 75.70	269.00 ± 94.32	411.18 ± 156.92*	437.76 ± 133.25*

3 讨论

本实验是在临床研究和工作经验的基础^[2]上进

行的。造模前各组大鼠体重无显著性差异,实验后各组大鼠体重均有所增加,但各组间比较也无显著性差异。比较各组大鼠实验前后体重,发现“脑还丹”2组(高剂量组)实验后体重显著高于实验前。尽管在临床工作中未观察到长期服药患者有体重和血脂增高的现象。这一结果仍引起了我们对该药是否会引起大鼠血脂升高的疑虑。检测实验后大鼠血脂的结果表明,“脑还丹”2组TG与HDL较空白对照组显著性增高,“脑还丹”1组和空白组比较则无显著性差异;“脑还丹”1~2组大鼠血清TC和LDL-c均显著低于空白对照组。

雌激素可降低肝酶的活性,使肝脏对HDL-c的摄取减少^[4];雌激素可上调肝细胞的LDL受体,使其活性增加,从而加快肝细胞摄取和分解循环中的LDL,降低循环中的LDL浓度。卵巢切除后由于雌

激素的分泌量下降, HDL 水平下降而 LDL 水平升高。本研究的结果表明, 卵巢切除大鼠用雌激素治疗后, HDL 和 TG 水平明显上升, LDL 和 TC 的水平显著降低, 和 Nabulsi^[5] 等的报道一致。同时“脑还丹”作为补肝肾和活血化瘀的药物可降低卵巢结扎大鼠 LDL-c 和 TC 的血清浓度, 高剂量可显著提高降低 HDL 和 TG 的水平。实验结果消除了我们在实验过程中对中药实验组大鼠体重增加会不会导致大鼠血脂增高等方面的担忧。

胰岛素样生长因子(Insulin-like Growth Factor I, IGF- I), 主要来源于肝脏和骨细胞合成。IGF- I 在中枢神经系统中主要分布于新大脑皮层、海马回、海马回嗅觉小脑、小脑的浦肯野氏细胞等组织细胞。IGF- I 是发育期和成熟中枢神经系统神经原与神经胶质细胞的营养因子; 研究表明, IGF- I 对神经原的存活、生长和分化具有一定的作用^[6]。在纯皮质神经原的培养过程中, IGF- I 具有促进神经原的存活, 神经突的延伸, 谷氨酸脱羧酶的表达^[6]。IGF- I 可防止小脑颗粒神经原的凋亡变性^[7]。另有研究者报道 IGF- I 可增加培养大鼠胎儿脑细胞胆碱能, 以及脑桥、下丘脑和中脑多巴胺能细胞的存活率^[8], 刺激其介质的特异性分化及其细胞的增殖, 表明 IGF- I 对中枢神经系统可能有一种比较普遍的神经营养作用。IGF 轴在缺血缺氧(Hypoxic-Ischemic, HI)神经原损伤模型早期可能作为内源性神经营养因子释放, 在 HI 模型神经原的修复和再生过程中也具有一定的作用^[8]。经侧脑室注 rhIGF- I 的单侧大脑 HI 损伤的大鼠, 脑梗塞的发病率呈剂量依赖性下降^[9], 表明 IGF- I 对神经原具有保护作用。IGF- I 能显著保护海马回神经原防止 BAP 衍生物和人支链淀粉所诱导的神经毒性损害^[10]。“脑还丹”能有效提高血清 IGF- I 水平, 说明“脑还丹”对神经原退行性变的防治、促进雌激素缺乏所导致的神经原变性后结构和突触密度的恢复与作用 IGF- I 有关。

由此可见, “脑还丹”防治神经原退行性变的机

制可能与调节血脂和血清 IGF- I 水平有关。

参考文献:

- [1] 浙江省中医研究所文献组. 重订《瑞竹堂经验方》[M]. 北京: 人民卫生出版社 1972. 58-80.
- [2] 李庆明, 谭朝晖, 程志安. “脑还丹”防治老年痴呆的经验[J]. 中医杂志 1999, 40(增刊): 89.
- [3] Kalu H, Liu CC, Hardin RR, et al. The aged rat model of ovarian hormone deficiency bone loss [J]. *Endocrinology* 1989, 124: 7-16.
- [4] Tikkanen MJ, Nikkila EA, Kuusi T, et al. High density lipoprotein 2 and hepatic lipase: reciprocal changes produced by estrogen and norgestrel [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 1982, 54(6): 1113-1117.
- [5] Nabulsi AA, Folsom AR, White A, et al. Association of hormone replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators [see comments] [J]. *N Engl J Med* 1993, 328(15): 1069-1075.
- [6] Aizenman Y, Vellis de J. Brain neurons develop in a serum and glial free environment: effects of transferrin, insulin, insulin-like growth factor I and thyroid hormone on neuronal survival, growth and differentiation [J]. *Brain Research* 1987, 406: 32-42.
- [7] D' Mello SR, Galli C, Ciotti T, et al. Induction of apoptosis in cerebellar granule neurons by low potassium: inhibition of death by insulin-like growth factor I and cAMP [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1993, 90: 10989-10993.
- [8] Connor B, Dragunow M. The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain. [J] *Brain Research Review*. 1998, 27: 1-39.
- [9] Granerus M, Schofield P, Bierke P, et al. The role of insulin-like growth factor system in neuronal rescue [J]. *Ann. NY Acad. Sci.* 1993, 692: 138-148.
- [10] Dore S, Kar S, Quirion R. Insulin-like growth factor I protects and rescues hippocampal neurons against beta amyloid and human amyloid induced toxicity [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1997, 94: 4772-4777.