

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

銀杏對老年癡呆症病患之血液流變性質之影響機制

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2218-E-038-001-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：臺北醫學大學生物醫學材料研究所

計畫主持人：劉得任

計畫參與人員：劉得任

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 1 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

銀杏對老年癡呆症病患之血液流變性質之影響機制

計畫編號：NSC 91-2218-E-038-001.

執行期限：91年8月1日 至 92年7月31日

主持人：劉得任 執行機構及單位名稱：臺北醫大學生物醫學材料所

計畫參與人員：劉得任 執行機構及單位名稱：臺北醫大學生物醫學材料所

中文摘要

造成阿滋海默症病患神經病變之重要因子之一可能源由阿滋海默症病患異常的血液流變性質：包括血液及血漿黏度增高、紅血球聚集度增加、血液黏彈性增高及紅血球變形度降低。本研究最主要是利用血液流變之模型探討銀杏葉萃取物 Egb-761 藥物對阿滋海默症病患之血液流變參數是否有得以改善更進而評估 Egb-761 藥物對阿滋海默症病患之療效功能。實驗結果發現 Egb-761 藥物能顯著降低阿滋海默症病患血漿中纖維蛋白原濃度、血漿黏度、紅血球聚集度及血液黏彈性，使血液黏度降低，對於紅血球變形度則無明顯差異。

關鍵詞： 銀杏葉萃取物 Egb-761，阿滋海默症，血液黏度

英文摘要

Hemorheologic changes, including the increase in blood and plasma viscosities, red blood cell (RBC) aggregation, blood viscoelasticity and decrease in RBC deformability, may be one of the important factors of the neurologic disorder in Alzheimer disease. In this study, we used Egb-761 (*Ginkgo biloba* extract) to show any positive effects in hemorrheologic parameters in patients with Alzheimer disease. The results revealed Egb-761 could significantly decrease blood viscosity by lowering the concentration of fibrinogen, plasma viscosity, RBC aggregation and blood viscoelasticity. However, there was no significant change in RBC deformability.

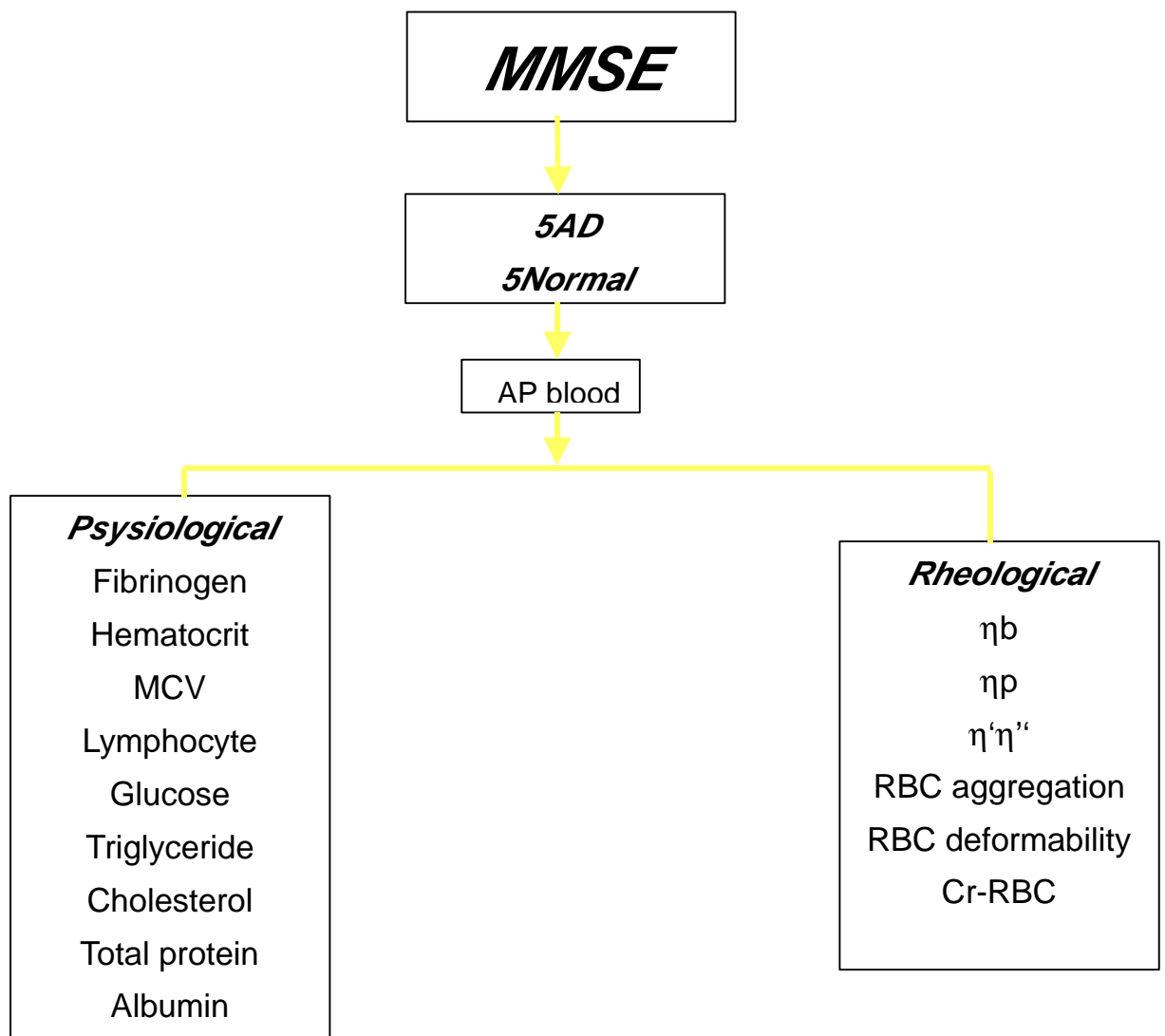
一.緣由與目的

由於阿滋海默症病患長期受大量 β -amyloid 堆積，壓迫微血管壁，使微血管形成變形，扭曲、凸出等不規則輪廓，繼而使血管內血流狀為紊流而非原有之層流，血液流變行為因而改變，造成血液黏度增加。故本研究利用銀杏葉萃取物 Egb-761 藥物來治療阿滋海默症病患，希望能更加了解此藥物對阿滋海默症病患血液流變學參數(血液黏度、血漿黏度、紅血球聚集度、紅血球變形度....)之影響。期望能夠為血液動力學療法應用於阿滋海默症病患微循環病變作更進一步之分析與研究。

二.實驗設備與方法

- 1.以旋轉式流變儀/雙板黏度計檢 (測whole blood Viscosity)，血漿黏度(plasma viscosity)，血液黏彈性(Blood Viscoelasticity)及計算出紅血球內黏度(TK value)。
- 2.利用電子阻抗原理測定 Hct、RBC、MCV...等一般血球定量分析。
- 3.用激光衍射法 (Ektacytometry)測定紅血球變形度(Erythrocyte deformability)及紅血球聚集度(Erythrocyte aggregation)。
- 4.應用 Modified nephelometric method 用於測定血漿中 fibrinogen 含量。

三.實驗流程



四.結果與討論

表一:阿滋海默症病患服用 EGb-761 葯物前後之生化檢驗參數及纖維蛋白原濃度值

Parameters	before treat	after treat	Pairot test (p value)
	Mean ± *SD(n=5)	Mean ±*SD(n=5)	
Glucose	89.00 ± 12.40	90.3±8.5	N.S
Triglyceride	67.3 ± 12.2	72.6±20.5	N.S
Cholesterol	168.6 ± 28.0	175.3±29.6	N.S
Total protein	7.13 ± 0.15	7.10±0.15	N.S
Albumin	4.10 ± 0.10	4.01±0.20	N.S
Fibrinogen	347.3 ± 42.9	316.6±33.0	P<0.05

*SD : Standard Deviation N.S : P>0.05

表二:阿滋海默症病患服用 EGb-761 葯物前後之 CBC 參數的比較

Parameters	before treat	after treat	Pairot test (p value)
	Mean+*SD(n=5)	Mean+*SD(n=5)	
WBCx10 ³ /mm ³	5.86±1.05	5.49±0.46	N.S
RBCx10 ⁶ /mm ³	3.99±60.50	4.00±69.20	N.S
Hgb(g/dl)	12.30±1.83	12.46±2.31	N.S
Hct(%)	37.67±5.51	37.30±6.24	N.S
Total Lymphocytes(cells/mm ³)	1770±130	1775±105	N.S
MCV	94.0±4.0	93.3±4.5	N.S
MCH	30.3±2.5	30.6±2.0	N.S
MCHC	32.0±1.0	33.0±1.0	N.S
Platelet	22.6±2.8	21.8±2.6	N.S

*SD : Standard Deviation N.S : P>0.05

表三:阿滋海默症病患服用 EGb-761 藥物前後之血液動力學參數值之比較

	before treat	after treat	Paivot test
Parameters	Mean±*SD(n=5)	Mean±*SD(n=5)	(pvalue)
Viscosity(η) of Whole blood(cp)			
$\gamma = 2$	14.76±1.17	12.30±0.60	P<0.05
$\gamma = 200$	4.05±0.26	3.45±0.02	P<0.05
$\gamma = 500$	3.42±0.04	3.28±0.03	P<0.01
Viscosity of Plasma(CP)			
TK	1.63±0.22	1.30±0.06	P<0.01
	0.82±0.03	0.83±0.02	N.S
Viscosity(η) of whole blood viscoelasticity(cp) , shear strain=0.05			
f=0.3	9.82±0.73	8.58± 0.67	P<0.05
f=1.0	8.36±0.71	6.88 ± 0.57	P<0.05
f=3.0	6.23±0.43	5.26± 0.14	P<0.05
Elasticity(ζ'') of whole blood viscoelasticity(cp) , shear strain=5%			
f=0.3	2.53±0.06	2.21±0.07	P<0.05
f=1.0	1.97±0.21	1.77±0.20	P<0.05
f=3.0	1.01±0.18	0.77± 0.06	P<0.05
RBC aggregation			
Index	4.10±0.35	3.79±0.22	P<0.01
RBC deformation			
Index			
$\gamma = 70$	0.2687±0.0555	0.2696±0.05	N.S
$\gamma = 210$	0.3620±0.0542	0.3625±0.05	N.S
$\gamma = 490$	0.4728±0.031	0.4759±0.04	N.S
$\gamma = 700$	0.5200±0.0371	0.5213±0.04	N.S
Shear Rate(sec ⁻¹)#			
$\zeta = 4cp$	180.3±10.90	162±7.5	P<0.01

*SD : Standard Deviation NS : p>0.05

#去聚集紅血球之臨界剪切率

表四:阿滋海默症病患服用 EGb-761 藥物後與正常老人之血液粘彈性、粘度及血漿中纖維蛋白原濃度之比較

Parameters	normal group	AD after treat	Student-t test
	Mean±SD	Mean±SD	
	(n=5)	(n=5)	(P value)
全血粘彈性(cp)之粘性(η')			
f=0.3	7.59±0.53	8.58± 0.67	P<0.01
f=1.0	6.25±0.34	6.88± 0.57	P<0.01
f=3.0	5.23±0.46	5.26± 0.14	P<0.01
全血粘彈性(cp)之彈性(η'')			
f=0.3	1.49±0.15	2.21±0.07	P<0.01
f=1.0	1.25±0.09	1.77±0.20	P<0.01
f=3.0	0.72±0.07	0.77± 0.06	P<0.01
血液粘度(cp)			
$\gamma=2$	12.22±0.48	12.30±0.60	P<0.01
$\gamma=200$	3.46±0.06	3.45±0.02	P<0.01
$\gamma=500$	3.28±0.06	3.28±0.03	P<0.01
纖維蛋白原濃度			
	251.10±16.73	316.6±33.0	P<0.01

<說明> SD：標準差 NS：P>0.05

在表一及表二中顯示,阿滋海默症病患服用 EGb-761 藥物三個月前後的 CBC 及生化檢驗參數值的比較,於統計上我們發現,除了血漿中纖維蛋白原濃度於服藥後有明顯降低(P<0.05)外,其餘參數則無明顯差異。

另外,在表三中顯示,阿滋海默症病患服用 EGb-761 藥物三個月前後的血液流變參數值的比較,於統計上我們發現,除了紅血球變形度無明顯差異外,其餘參數皆有明顯差異。

一、 EGb-761 對阿滋海默症病患血液粘度之影響

表三是服用 EGb-761 前後血液動力學參數之比較,其剪切率分別於 2,200 及 500sec⁻¹ 的血液粘度於服藥後均有明顯之降低趨勢,由此可顯示出 EGb-761 藥物可使阿滋海默症病患血液粘度降低,進而改善血液流變特性。此外,由於阿滋海默症病患於服藥後血中紅血球變形度無明顯差異,這說明了 EGb-761 對於血液粘度的影響,主要是由於血漿粘度降低所引起的,而與紅血球作用無關。足以論證,對於阿滋海默症病患異常血漿性質有改善之效果。

阿滋海默症病患血漿粘度增高,乃因血漿中纖維蛋白原濃度增加所致。纖維

蛋白原是從肝臟合成出來的蛋白質，為血漿蛋白中分子量最大(MW：330000)的蛋白分子，呈不對稱纖維狀，具有空間結構，促使纖維蛋白原分子間及與其他蛋白質間的互相拉引，故產生粘度能力較大。而阿滋海默症病患血漿中纖維蛋白原濃度的增加應與血漿中

脂質過氧化程度的增加有關(78)，氧化壓會增強介質素-b(IL-b)藉由活化訊號傳遞分子(signal-transducing molecules)結合到 IL-b 在纖維蛋白原基因上的 promotal region 而提高 Fibrinogen genes 的 Transcription 最後誘使纖維蛋白原的生成(77)。

EGb-761 組成中含 24% 的 Ginkgo-flavone glycosides 及 6% 的 Terpenoids，其中 Ginkgo-flavone glycosides 具抗氧化及清除自由基的功能(1)。因此，我們認為 EGb-761 以其具抗氧化作用，減低阿滋海默症病患血漿中氧化壓的程度，使得蛋白原的生成代謝受阻，纖維蛋白原在血漿中的濃度因而降低，血漿粘度繼而減低，最終使血液的粘度降低。

二、 EGb-761 對阿滋海默症病患血液粘彈性之影響

阿滋海默症病患由於血漿中纖維蛋白原濃度增加(使紅血球對其引力增加大過於紅血球間的斥力，紅血球間橋聯作用漸趨明顯)，紅血球表面電荷降低及類澱粉蛋白對血管的壓縮作用，使得紅血球大量聚集，進而增加血液的粘彈性。本實驗發現 EGb-761 能顯著降低阿滋海默症病患紅血球聚集度及血液粘彈性其作用機制可能有以下四點：

- (1) EGb-761 抑制紅血球內鈣(calium)離子濃度的增加，使鈣離子無法誘使纖維蛋白原結合到紅血球膜上(2)
- (2) EGb-761 能作用於骨髓造血細胞區，製造出一具有正常血液流變性質的紅血球群(population)(L)紅血球表面電荷足夠，紅血球斥力增加，紅血球就不易聚集。
- (3) EGb-761 能藉由其抗自由基作用而清除 β -amyloid，避免紅血球與 β -amyloid 作用而降低紅血球的聚集度(H)。
- (4) 降低血漿中纖維蛋白原的限度，使紅血球間的橋聯作用替代降低紅血球的聚集度。

紅血球於低剪切率下可因纖維蛋白原之橋聯連結作用而呈現聚集現象，紅血球聚集量愈大，線串或網狀結構愈明顯，則所顯現出彈性值較高，阿滋海默症病患血液粘度及改善阿滋海默症病患腦部血流量降低的特性，阿滋海默症病患服用 EGb-761 三個月後，血液粘彈性下降了，這對血液流動及循環生理而言，應有助於流動順暢性。

最後，就阿滋海默症病患口服 EGb-761 三個月後，其血液流變參數與正常人之比較(表四)，我們也發現了下列幾個事實：

- 一、 就血漿中纖維蛋白原而言，我們發現阿滋海默症病患雖予以口服 EGb-761 藥物三個月，其纖維蛋白原濃度仍較正常老人為高，這可能顯示阿滋海默症病患血漿中存在的脂質過氧化降低程度卻無法降到如正常老人般低。

二、EGb-761 能降低阿滋海默症病患血漿粘度及纖維蛋白原濃度，卻無法提高阿滋海默症病患紅血球變形度，因此我們認為EGb-761 能降低阿滋海默在血漿中脂質過氧化的程度，而無法改善作用於紅血球膜的脂質過氧化作用。

就以上兩點論證而言，我們認為EGb-761 藥物雖可降低阿滋海默症病患血液粘度，粘彈性值，但卻並非達到完全改善的正常值。因此就阿滋海默症病患而言，以傳統治療方式維持其心智及行為能力的執行，以及配合口服EGb-761 藥物治療是同時併行重要的。

五.參考資料

1. I.Bourdel-Marchasson , M.C.Delmas-Beauvieux , E.Peuchant , S. Richard-Harston , A.Decamps , B.Reignier , J.P. Emeriau and M. Rainfray ,
“ Antioxidant defences and oxidative stress markers in erythrocytes and plasma from normally nourished elderly Alzheimer patients ”, Age and Ageing , 30 , 235-241 (2001)
2. T.Rankinen , E.Hietanen , S.Väisänen , M.Lehtiö , I.Penttilä , C. Bouchard and R.Rauramaa , “ Relationship between lipid peroxidation and plasma fibrinogen in middle-aged men“ , Thrombosis Research , 99 , 453-459 (2000)
3. S.Bastianetto , C.Ramassamy , S.Dore , Y.Christen , J.Poirier and R.Quirion ,
“ The ginkgo biloba extract(EGb761) protects hippocampal neurons against cell death induced by β -amyloid“ , European Journal of Neuroscience , 12 , 1882-1890(2000)
4. F.Jung , C.Mrowietz , H.Kiesewetter , and E.Wenzel , “Effect of Ginkgo biloba on fluidity of blood and peripheral microcirculation in volunteers“ , Drug Research , 40 , 589-593(1990)
5. S.Witte , “Therapeutical aspects of Ginkgo biloba flavone glucosides in the context of increased blood viscosity“ , Clinical Hemorheology , 9 , 323-326(1989)
6. B.S.Oken , D.M.Storzbach , J.A.Kaye , “The efficacy of Ginkgo biloba on cognitive function in Alzheimer disease“ , Arch Neurology , 55 ,

1409-1415(1998)

7. V.S.Witte , I.Anadere and E.Walitzka , “Verbesserung der Hamorheologie durch Ginkgo-biloba-extrakt“ , Fortschr Med. , 13 , 247-250(1992)