维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2002年第11卷第4期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2002, Vol.11, No.4

银杏叶对小鼠海马神经元超微结构的影响及抗衰老作用

吴树亮* 金连弘* 肖 辉** 田 波*** 李竹英**** 孟祥和*****

【摘 要】 **目的** 研究银杏叶提取物对小鼠海马神经元超微结构的影响及抗衰老作用。**方法** 取小鼠海马作实验材料,用定量体视学方法观察两组小鼠在不同时期海马神经元胞体、胞核、核仁等形态参数的变化,然后对结果用逐步回归的方法进行分析。**结果** 随着鼠龄的增加,细胞核体积逐渐减少,神经元损失较多,而银杏叶组上述变化较不明显。**结论** 银杏叶提取物可以影响小鼠海马神经元的超微结构,具有抗衰老作用。

【关键词】 小鼠;银杏叶;海马;神经元超微结构;抗衰老

Effects of gingkgo leaf on the ultrastructure of mouse hippocampal neuron and on consenescence *Wu Shuliang, Jin Lianhong, Xiao Hui, et al. Department of Neurobiology, Harbin Medical University, Harbin* 150001

【**Abstract**】 **Objective** To study the effect of gingkgo leaf on the ultrastructure of hippocampal neuron in mouse and its anti-consenescence effect. **Methods** Using hippocampus of mouse as experimental materials, changes of morphological parameters of neuronal cell body, nuclei and nucleolus in different period in control and gingkgo leaf treated groups were observed by quantitative stereological method and the results were analyzed with gradual - regression method. **Results** With the incresing of the age of mouse, the volume of cell body and the number of neurons decreased. **Conclusion** The gingkgo leaf may affect the ultrastructure of mouse hippocampus and may delay consenescence.

【**Key words**】 Mouse; Gingkgo biloba; Hippocampus neuronal ultrastructure; Anti-consenescence

银杏叶可增加海马区M-胆碱受体,诱导、增加Ach的释放,改善脑血循环和脑葡萄糖代谢,提高老年小鼠的学习记忆能力[1]。但是银杏叶对海马神经元超微结构是否有影响,以及这种可能的影响是否能延长小鼠的寿命从而起到抗衰老的作用,文献尚未见报道。本实验用小鼠海马作实验材料,用体视学方法测出小鼠海马神经元胞体、胞核、核仁等的若干个形态参数。为了观察那些参数与日龄有直接关系,本实验用各参数作自变量,用日龄作应变量,用逐步回归法筛选出最优回归方程,进一步讨论银杏叶对海马神经元超微结构形态学参数的影响,从而探讨银杏叶抗衰老的作用。

材料和方法

一、实验动物:62只昆明种雌性小鼠随机分为两组,其中32只为对照组,用正常饲料喂养;30只为实验组,除用正常饲料喂养外,自幼年起把银杏叶提取物(90mg/d)加入饲料喂养。对照组均分别在幼年期(40 d),性成熟期(90 d),老年期(380 d),实验组在90 d和380 d处死作实验。

二、实验方法:不同年龄期各组中随机抽出4只小鼠用乙醚麻醉,行左心室灌流固定,固定后立即取出海马,将其切割成1 mm×1 mm×1 mm小块进行固定,常规电镜制片。每只小鼠包埋两个组织块,每块切片制作铜网两个,每个铜网随机拍摄总放大率为4000×的照片3张,即每组中得48张照片,将其分成4组,然后用体视学方法测出各组形态学参数值。48张照片共测得参数12个,它们分别为:胞体的数密度(N_{V1}),细胞核的数密度(N_{V2}),核仁的数密度(N_{V3}),神经元胞体体密度(V_{V1}),核体密度(V_{V2}),核仁与核体积之比(V_{V3}),细胞表面积与体积之比(S_{V1}),细胞核表面积与

* 作者单位:150001 哈尔滨医科大学神经生物学教研室
** 附属二院耳鼻喉科
*** 组胚教研室
**** 黑龙江中医药大学附属一院
***** 哈尔滨轴承厂职工医院

维普资讯 http://www.cqvip.com

体积之比(S_{V2})，核仁表面积与体积之比(S_{V3})，神经元胞体的体积加权平均体积($\bar{V}_1$)，细胞核的体积加权平均体积($\bar{V}_2$)，核仁的体积加权平均体积($\bar{V}_3$)。对12个参数分别用逐步回归法加以分析，这个步骤用微机实现[2]。逐步回归法只对对照组实施，然后将实验组参数逐个带入回归方程，求其对应的日龄，通过神经元超微结构的变化来说明银杏叶的抗衰老作用。

结　果

一、从放大率为4000×的照片中，测得的12个参数，见表1。

表1　放大率为4000×的各形态参数

参数	幼年组	性成熟期		老年期	
		对照组	实验组	对照组	实验组
N_{V1}	0.000712±0.000050	0.00143±0.00031	0.0009583±0.000265	0.00109±0.00019	0.000827±0.000194
N_{V2}	0.00109±0.00010	0.00160±0.00028	0.00131±0.00019	0.169±0.069	0.000798±0.000095
N_{V3}	0.00491±0.00082	0.00773±0.00162	0.00734±0.00060	0.00594±0.00098	0.00265±0.00073
V_{V1}	0.486±0.038	0.638±0.185	0.352±0.037	0.452±0.079	0.403±0.054
V_{V2}	0.251±0.027	0.342±0.121	0.164±0.025	0.256±0.051	0.212±0.018
V_{V3}	0.0301±0.098	0.0342±0.0063	0.0443±0.0215	0.383±0.125	0.0307±0.0061
S_{V1}	0.456±0.087	0.493±0.0085	0.479±0.124	0.762±0.109	0.474±0.122
S_{V2}	0.553±0.083	0.655±0.161	0.751±0.198	1.12±0.13	0.647±0.128
S_{V3}	3.74±1.29	3.35±0.96	0.765±1.114	2.16±0.32	3.87±2.15
$\bar{V}_1$	732±56	537±70	473±89	494±98	661±129
$\bar{V}_2$	242±28	249±28	158±40	245±49	256±31
$\bar{V}_3$	1.48±0.15	1.67±0.25	0.987±0.147	1.96±0.42	3.20±0.57

表1中V_{V1}至V_{V3}用计点法测量，各量无量纲。S_{V1}至S_{V3}按照公式$S_V = 4N/ZP$[3]求得。Z为测试格常数，N为测试线与所测膜交点，P为落在细胞上的测试点。体积加权平均体积用点取截距法(Point - sampled intercept)测得[2,3]。即$\bar{V} = \pi/3I_0^3$。I_0为点取截距。N_V用公式$N_V = \bar{V}/V_V$求得。S_V的单位为$\mu m^2/\mu m^3$或μm^{-1}，的单位为μm^3，N_V的单位为μm^{-3}。

以表1中12个参数为自变量(X)，日龄为应变量(Y)，每组均有24个样本，将各样本中的X和Y值用逐步回归法分析，得回归方程：$Y = -167 + 539X_1 - 86213X_2$复相关系数R=0.97

回归方程中X1为细胞核表面积与体积之比，X2为胞体的数密度，即单位体积内神经元胞体的数目。

按回归方程算出对照组及实验组各小组回归年龄值，见表2。

把表2中实验组和对照组各组年龄值进行比较可发现两组年龄有显著性差异。提示小鼠自幼年起经常服用银杏叶可改变海马区神经元的超微结构，从而起到抗衰老的作用。

表2　按回归方程算得各组回归年龄值

	对照组	实验组
1	342.71	110.43
2	389.45	147.61
3	338.26	106.37
4	369.14	119.53
回归年龄平均值	359.89	120.99

注：两组比较，$P < 0.001$

讨　论

本实验利用体视学方法测量小鼠海马区神经元超微结构的各形态参数，同时利用逐步回归的方法对海马区神经细胞、胞核和核仁三个不同层次上所测得的各形态参数进行回归运算，目的是为了寻求各形态参

维普资讯 http://www.cqvip.com

数的变化对日龄的影响。运算结果发现,对小鼠日龄影响最大的是细胞核表面积与体积之比(S_{V2})和神经细胞的数密度(N_{V1})。由回归方程可知,随着小鼠日龄的增加,细胞表面积与体积之比增大,神经元的数密度逐渐减少(图1~3)。说明随着日龄的增加细胞核的体积逐渐减小,神经元损失较多。同时,把实验组与对照组进行比较可发现,实验组由于S_{V2}减小,N_{V1}的增大从而降低了回归年龄。



图1 对照组海马神经元(表面积与体积之比增大)



图2 实验组海马神经(表面积与体积之比减少)

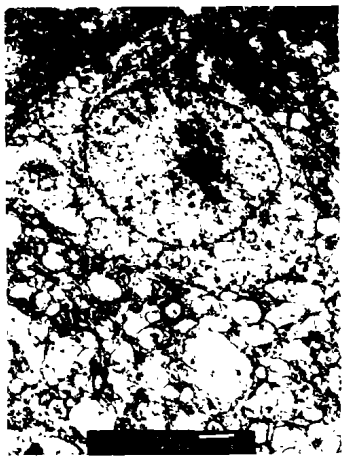


图3 对照组海马神经元(密度减少)



图4 实验组海马神经元(密度增大)

银杏叶为银杏科植物银杏树的干燥叶,其主要活性成分为黄酮类和内酯类。动物实验表明,银杏叶提取物能促进大脑循环代谢,增强记忆力。我们的实验证明银杏叶提取物Egb761可以减少海马区神经元的丢失,影响海马区神经元的超微结构。从而提示银杏叶可以延长小鼠的寿命,从而起到抗衰老的作用。

参 考 文 献

1. 刘孟渊,刘惠纯. 益智中草药的研究概况. 中国中西医结合杂志, 1995,15(1):59-61.

2. 郭祖超. 医用数学统计方法. 第3版. 北京人民卫生出版社,1988.420-457.

3. Gundersen HJ. Stereological estimation of the volume-weighted mean volume of arbitray particles observed on vandom sections. J Microsurg, 1985,138(2):127-142.

(收稿日期:2002-11-03)