

自拟抗衰延年方对D-半乳糖致衰老大鼠学习记忆及炎症因子的影响

熊彤彤^{1*}, 赵福翠¹, 唐中生^{2#}, 王恒¹, 邹江梅¹, 黄林¹

¹贵州中医药大学第二临床医学院, 贵州 贵阳

²贵州中医药大学解剖学教研室, 贵州 贵阳

收稿日期: 2024年2月17日; 录用日期: 2024年3月18日; 发布日期: 2024年3月28日

摘要

目的: 研究抗衰延年方对D-半乳糖致衰老大鼠学习记忆及炎症因子的影响。方法: 雄性SD大鼠采用D-半乳糖皮下注射制备亚急性衰老大鼠模型, 随机数字法分为模型组、吡拉西坦组、抗衰延年方组, 每组保证6只, 另设6只作为对照组。治疗30天, Morris水迷宫检测各组大鼠的记忆功能和学习, 苏木精-伊红(HE)染色观察海马CA1区神经细胞病理变化, 酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组大鼠血清中IL-2、IL-6。结果: 与正常对照组比较, 模型组大鼠逃避潜伏期延长、跨越平台次数减少, 具有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 吡拉西坦组和验方组大鼠逃避潜伏期缩短、跨越平台次数增加, 统计学意义显著($P < 0.01$)。与正常对照组比较, 模型组血清IL-2、IL-6表达增加($P < 0.05$); 与模型组比较, 验方组血清IL-2、IL-6表达明显降低($P < 0.05$)。光镜下, 正常对照组海马CA1区锥体细胞排列整齐, 神经元结构完整; 模型组海马CA1区局部可见锥体细胞坏死, 神经元胞核消失、胞体皱缩, 体积变小。吡拉西坦组和中药验方组CA1区锥体细胞排列整齐, 数量略减少, 胞核大, 核仁明显, 胞质胞核分界清晰, 未见明显神经元变性和坏死。结论: 抗衰延年方可通过降低血清中IL-2、IL-6含量, 提高衰老大鼠的学习记忆能力。

关键词

抗衰延年方, 衰老, 学习记忆, 炎症因子

The Effect of Self-Designed Anti-Aging and Prolonging Life Formula on Learning, Memory, and Inflammatory Factors in D-Galactose-Induced Aging Rats

Tongtong Xiong^{1*}, Fucui Zhao¹, Zhongsheng Tang^{2#}, Heng Wang¹, Jiangmei Zou¹, Lin Huang¹

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 熊彤彤, 赵福翠, 唐中生, 王恒, 邹江梅, 黄林. 自拟抗衰延年方对 D-半乳糖致衰老大鼠学习记忆及炎症因子的影响[J]. 药物资讯, 2024, 13(2): 110-117. DOI: 10.12677/pi.2024.132014

¹The Second Clinical School of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²Anatomy Teaching and Research Office, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Feb. 17th, 2024; accepted: Mar. 18th, 2024; published: Mar. 28th, 2024

Abstract

Objective: To study the effects of anti aging and yannian formula on learning, memory, and inflammatory factors in D-galactose-induced aging rats. **Method:** Male SD rats were subcutaneously injected with D-galactose to prepare a subacute aging rat model. They were randomly divided into a model group, a piracetam group, and an anti-aging and prolonging formula group, with 6 rats in each group, and an additional 6 rats as the control group. After 30 days of treatment, Morris water maze was used to detect the memory function and learning of each group of rats. Hematoxylin eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of neural cells in the hippocampal CA1 area. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect IL-2 and IL-6 in the serum of each group of rats. **Result:** Compared with the normal control group, the model group rats had a longer escape latency and a reduced number of crossing platforms, which was statistically significant ($P < 0.05$); compared with the model group, the escape latency of rats in the piracetam group and the experimental group was shortened, and the number of crossing platforms increased, with statistical significance ($P < 0.01$). Compared with the normal control group, the model group showed an increase in serum IL-2 and IL-6 expression ($P < 0.05$); compared with the model group, the expression of serum IL-2 and IL-6 in the experimental group was significantly reduced ($P < 0.05$). Under the light microscope, the pyramidal cells in the CA1 area of the hippocampus of the normal control group were arranged neatly and the neuronal structure was intact; in the CA1 area of the hippocampus in the model group, necrosis of pyramidal cells, disappearance of neuronal nuclei, shrinkage of cell bodies, and reduction in volume were observed locally. The pyramidal cells in the CA1 area of the piracetam group and the traditional Chinese medicine formula group were arranged neatly, with a slightly reduced number, a large nucleus, obvious nucleolus, clear cytoplasmic nuclear boundary, and no obvious neuronal degeneration or necrosis. **Conclusion:** Anti aging and longevity formula can improve the learning and memory abilities of aging rats by reducing the levels of IL-2 and IL-6 in serum.

Keywords

Anti Aging and Longevity Formula, Aging, Learning and Memory, Inflammatory Factors

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

衰老作为广泛涉及每一个器官和组织的慢性改变，是一个复杂和渐进的生物学过程，与多种疾病的发生相关。衰老的普遍性、内因性、进行性及有害性作为衰老的标准已被普遍接受。近年相关细胞因子的作用越来越被医者所认可，细胞因子与衰老相关性的研究也越来越多。免疫衰老学说的主要分子机制是 IL-2 随年龄增加分泌减少 [1]，巨噬细胞分泌的几种主要细胞因子之一是 IL-6 [2]。当体内 D-半乳糖浓度增加时，D-半乳糖就会转化为半乳糖醇，自然就在细胞中堆积，然后诱导渗透并产生 ROS，

导致线粒体功能障碍,是衰老模型大鼠细胞内损伤的主要原因[3]。《格致余论》谓:“人之有生,心为火居上,肾为水居下,水能生而火有降,一升一降,无有穷已,故生意有焉。”衰老多因人之三宝“精”、“气”、“神”虚衰。对于养生御病,黔中名老中医俞才钧认为人体虚弱多为正气亏损。正气虽有卫气、中气、元气等之分,然而总是不离肺、脾、肾脏腑之气。卫气为肺所主,表示人体防御疾病的能力;中气由脾所主,为后天获得的生命之气;元气由肾所主,为先天生命之气。三气互补,内至脏腑,外达肌肤,可谓生命之源泉,阳化气,气成形,周而复始,生命不息。据此俞氏创立了养生御病方,调补肺、脾、肾三脏之气,取补肺护卫,培土生金,补火生土,扶阳坚阴,调中转输,相生为用,用于体虚易外感者[4]。课题组在俞老验方基础上,增加山药、茯苓、芡实、桂圆、红枣、肉苁蓉和炙甘草,命名为抗衰延年方,共奏补精益气,平调阴阳,延缓衰老之功。D-半乳糖致衰老大鼠模型被本实验制备,观察抗衰延年方对衰老模型大鼠血清 IL-2、IL-6 含量的影响,来判断其有效性,为其临床应用提供理论依据。

2. 材料与方

2.1. 材料

2.1.1. 实验动物

30 只清洁级健康雄性 SD 大鼠,体重 280~300 g,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,许可证号 SCXK(湘)2014-0011。

2.1.2. 药品与试剂

自拟抗衰延年方:黄芪、山药、茯苓、芡实、党参、白术、仙灵脾、扁豆、黄精、枸杞、炙甘草、红枣(购于贵州中医药大学第一附属医院);吡拉西坦(多多药业有限公司,20200623);双抗体夹心 ELISA 盒(欣博盛,ERC001/R210602-001b);中性树胶(北京索莱宝,G8590);苏木素染液(比克曼生物)。

2.1.3. 仪器

自动组织脱水机(Canicee);XLCU-PHY-III 型病理组织漂烘仪(北京海富达科技有限公司);低温高速离心机(力辰科技,LC-LX-H165A);转轮式切片机(YD-315-上海五相仪器仪表有限公司);电子分析天平(群安,JOANLAB);BMJ-A 型包埋机(YZB 苏 0017-2009);RS36 型全自动染色机(金华惠友仪器设备有限公司)等。

2.2. 方法

2.2.1. 造模及分组

30 只大鼠在适应性饲养一周后,随机分为模型组、抗衰延年方组、吡拉西坦组和正常对照组,最后保证每组 6 只,除正常对照组外,其余组大鼠每日定时腹部皮下注射 10 mg/mL 的 D-半乳糖溶液 100 mg/kg,连续 30 d,制备大鼠衰老模型 24 只。

2.2.2. 分组治疗

① 中药组:每日一次给予抗衰延年方水煎剂灌胃治疗,每次 10 mL·kg⁻¹。连续 21 次。② 吡拉西坦组:隔天一次,行吡拉西坦灌胃治疗 10 mg·kg⁻¹。连续 21 天。③ 模型组和正常对照组:常规饲料喂养,不予其他干预性饲料。

2.2.3. Morris 水迷宫检测学习记忆

治疗后第 28 天,四组不同的大鼠开始水迷宫检测。Morris 水迷宫是一个环形的水池,水深 25 cm,

直径 88 cm, 深 38 cm, 水深 25 cm, 水温(25 ± 1)°C, 四周四个等间距的点将四个四分之一的池子分成四个四分之一, 其中, 选择第三个四分之一的区域放在中心的一个平台上, 这个平台是无色的, 是半透明的。直径 7 cm, 高 30 cm, 水面高于平台 2 cm, 水池附近的参考点是一样的。第 1~6 d 开始进行定向航行试验, 每天将大鼠分别从每个入口(每个四分之一的池墙中间点), 按照 I、II、III、IV 象限依次将其置于水面, 以 60 s 之内从平台上爬出的时间作为躲避潜伏期; 第 7 d 行空间探索实验, 用第三个四分之一的区域观察记录 90 s 内各组大鼠穿越站台次数及游动时间。

2.2.4. ELISA 检测血清中 IL-2 和 IL-6 含量

将大鼠麻醉之后, 从腹股沟切口, 切断股动脉, 收集血样, 冷藏一晚, 留取血清备用, 以便进行 IL-2、IL-6 含量检测。谨慎采集大鼠血清, 置于不含内毒素、热源管中, 立即进行放置, 或存放于 70°C 冰柜冷藏。双抗体 ELISA 夹心法测定血浆中蛋白质的研究, 特别是 IL-2 和 IL-6 含量(具体步骤参考试剂盒说明书)。

2.2.5. HE 染色观察海马 CA1 区神经细胞形态学变化

血液采集后将大鼠的大脑切成小段, 取出大鼠的大脑, 并在 12 小时后取出大鼠的海马。采用梯度乙醇脱水, 澄清, 蜡浸; 细胞包埋后, 取 5 微米的连续冠状层。应用 Biomias 99 成像软件对苏木素-伊红(HE)法进行了显微组织学检查, 并对其进行了图象处理[5]。

2.2.6. 统计学分析

应用 SPSS 25.0 统计分析软件进行统计学分析。采用一因子变异数分析或一项非参数检定进行多组之间的比较, 再进行两两比较, 计量资料均用数据用($\bar{x} \pm s$)表示。P < 0.05 为有显著性差别。

3. 结果

3.1. 各组大鼠 Morris 水迷宫学习记忆能力检测

3.1.1. 各组大鼠空间学习能力检测结果

与正常对照组相比, 模型组逃避潜伏期明显延长(P < 0.01), 表明 D-半乳糖致衰老模型大鼠的学习记忆能力明显下降, 证明 D-半乳糖衰老大鼠模型建立成功; 吡拉西坦组和中药验方组寻找平台时间比 D-半乳糖模型组明显缩短(P < 0.01), 证明中药验方组能提高 D-半乳糖模型大鼠学习能力。见表 1。

Table 1. Platform search time for each group of rats ($\bar{x} \pm s$)

表 1. 各组大鼠搜寻平台时间($\bar{x} \pm s$)

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
正常对照组	77.65 ± 8.63	77.17 ± 3.40	52.95 ± 4.19	48.24 ± 3.97	37.33 ± 4.16
模型组	86.66 ± 1.68	82.57 ± 2.66*	70.89 ± 5.60**	67.85 ± 5.54**	72.19 ± 3.37**
吡拉西坦组	82.00 ± 6.96	75.79 ± 2.03	65.31 ± 2.62 ^Δ	61.11 ± 3.00 ^{ΔΔ}	46.00 ± 5.14 ^{ΔΔ}
中药验方组	79.95 ± 6.42	75.67 ± 2.87 ^{ΔΔ}	63.85 ± 3.70 ^{ΔΔ}	61.18 ± 2.94 ^{ΔΔ}	42.14 ± 3.82 ^{ΔΔ}

注: 与正常对照组比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与模型组比较, ^ΔP < 0.05, ^{ΔΔ}P < 0.01。

3.1.2. 各组大鼠空间探索能力检测结果

上述实验完成后次日, 撤除平台, 开展空间探索实验, 模型组大鼠穿越平台象限次数明显低于正常对照组(P < 0.01), 说明模型组大鼠空间探索能力下降; 中药验方组穿越平台区域次数明显增加(P < 0.01), 说明中药验方能提高 D-半乳糖大鼠空间学习记忆能力。见表 2。

Table 2. Number of times each group of rats crossed the platform ($\bar{x} \pm s$, times)**表 2.** 各组大鼠穿越平台次数($\bar{x} \pm s$, 次)

组别	目标区域停留时间(s)	穿越平台次数(次)
正常对照组	16.75 ± 1.48	3.67 ± 0.78
模型组	5.75 ± 1.54**	1.08 ± 0.79**
吡拉西坦组	9.83 ± 1.53 ^{ΔΔ}	2.33 ± 0.65 ^{ΔΔ}
中药验方组	10.83 ± 1.47 ^{ΔΔ}	2.42 ± 0.51 ^{ΔΔ}

注：与正常对照组比较，**P < 0.01；与模型组比较，^ΔP < 0.05，^{ΔΔ}P < 0.01。

3.2. 各组大鼠血清 IL-2、IL-6 含量检测结果

与正常对照组比较，模型组血清 IL-2、IL-6 含量增加(P < 0.05)，说明模型组大鼠脑缺血会产生全身性的炎症反应。与模型组比较，中药验方组血清 IL-2、IL-6 含量降低(P < 0.05)，说明中药验方治疗后，减轻大鼠脑缺血后的炎症反应。见表 3。

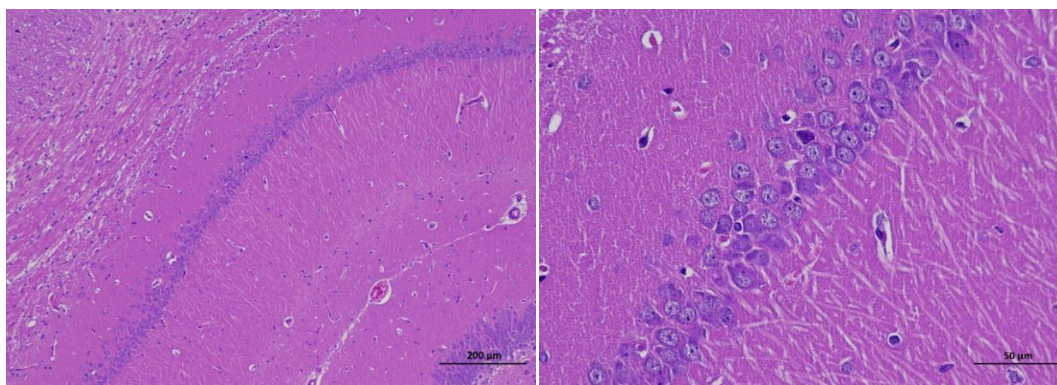
Table 3. Serum IL-2 and IL-6 levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)**表 3.** 各组大鼠血清 IL-2、IL-6 含量($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-2 (Pg/mL)	IL-6 (Pg/mL)
正常对照组	6	26.22 ± 1.76	73.31 ± 3.31
模型组	6	74.63 ± 68.72*	178.14 ± 153.52*
吡拉西坦组	6	36.31 ± 7.22	107.46 ± 42.83
中药验方组	6	31.36 ± 3.61 ^Δ	78.40 ± 4.19 ^Δ

注：与正常对照组比较，*P < 0.05；与模型组相比，^ΔP < 0.05。

3.3. 各组大鼠海马 CA1 区神经细胞 HE 染色结果

正常对照组海马 CA1 区锥体细胞排列整齐，神经元结构完整；模型组可见少量的锥体细胞坏死，神经元胞核消失(黑色箭头)，神经元胞体皱缩(蓝色箭头)，体积变小，染色加深，胞质胞核分界不清，少量的神经元水肿(绿色箭头)，胞质疏松淡染；神经纤维结构较疏松；吡拉西坦组和中药验方组 CA1 区锥体细胞排列整齐，数量较正常组减少，胞核大，核仁明显，胞质胞核分界清晰，未见明显神经元变性和坏死。见图 1。



(a) 正常对照组 × 100

(b) 正常对照组 × 400

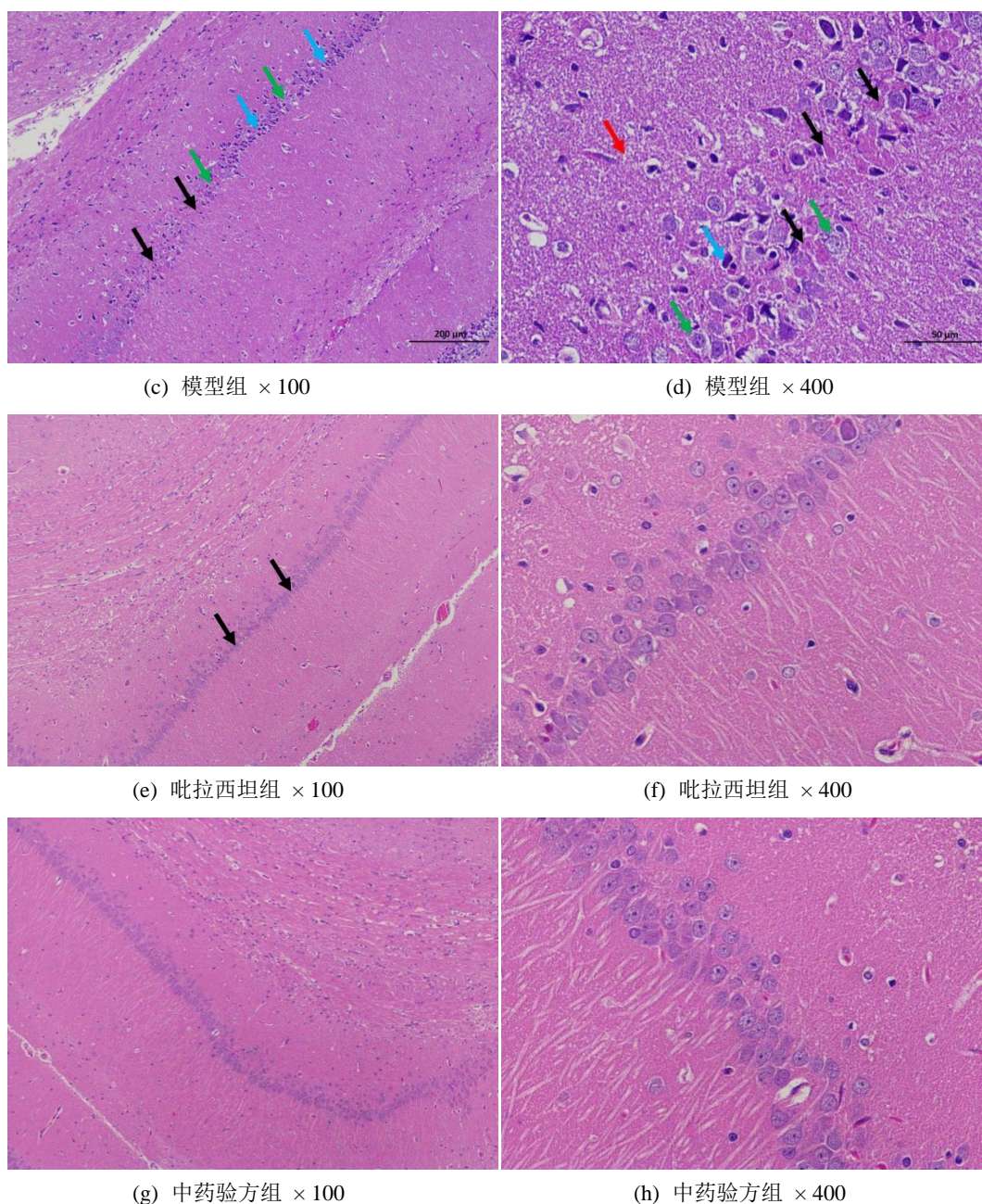


Figure 1. Morphological analysis of HE staining of neural cells in the hippocampal CA1 region of rats in each group

图 1. 各组大鼠海马 CA1 区神经细胞 HE 染色形态学分析

4. 讨论

近年来,对老化的不同理论是伴随着现代医学的不断发展而不断深入的,也有大量的研究致力于新提出的“衰老疗法”(SenotheraPies) [6],并取得了较为显著的成果。细胞老化作为人体老化的一个主要原因,其机理的研究正逐步深入[7]。但进一步的研究还需要现代理论和实验方法的支持。现有研究认为,衰老是 DNA 退化、饮食精神因素、干细胞衰退、老化是多种因子共同作用的产物,如:老化相关基因活动,但尚未有一个公认的老化学说。研究表明,在神经系统内,多种细胞因子参与了信号的传导[8]。

近年来,有关细胞因子在临床上的应用日益为临床医生所认可。其中,关于细胞因子与衰老相关性的研究也越来越多。**IL-2**是一种以激活T淋巴细胞为主的新型抗肿瘤药物,其对机体的免疫功能起着重要的调控作用。**IL-6**在巨噬细胞中发挥着关键的免疫功能的作用,比如:吞噬、抗原提呈以及炎症调节。脑卒中后,神经元的兴奋性和毒性增加,导致机体出现大量的炎性损伤。它可以通过花生四烯酸通路,促进脂质酶的释放,从而导致大脑的缺血、低氧及神经损害。其中**IL-6**的作用是依赖于细胞内的物质含量,它可以通过对神经突触的可塑性和形状的改变来对大脑的认知能力产生作用[9]。

D-半乳糖致老化大鼠模型制作简单、成本较低,实验效果较好;是国内应用最广泛的一种老化动物模型[10],D-半乳糖致衰老大鼠模型的生物化学及生理特性与天然老化相近,但关于其机制及特性的研究甚少[11]。吴媛妮等人的研究中,对老年大鼠脑组织抗氧化及学习记忆的作用,D-半乳糖存在一定的影响作用[12]。研究证明,D-半乳糖能明显地引起组织细胞的衰退,并能引起心肌的氧化性损害[13]。当D-半乳糖水平升高时,半乳糖氧化酶可以将其转化为乙醛和过氧化氢,从而使小鼠大脑中的过氧化反应增多,并使其释放出大量的超氧阴离子,从而造成神经细胞的损害,使脑内总RNA和蛋白质含量下降脑内神经元密度降低引起认知功能损害,如学习和记忆,并导致老化[14]。因此,我们利用了小鼠皮下注射D-半乳糖复制大鼠的老化模型。

大脑的退化是老年患者最主要的病理改变,其主要表现为神经元的萎缩,脑细胞数量的下降,脂褐素沉积增多,细胞间突触数量减少等。其中,高雅婷等人的研究中,充分证明了棉子糖3个浓度可以显著降低脂褐素的沉积,而脂褐素又是公认的衰老标志物[15]。海马与人类的认知能力有着紧密的联系,是老年大脑退化研究的良好靶区。我们前期研究表明,大鼠大脑衰老大鼠的神经元排列无序,细胞密度降低,细胞内可见空泡样等,模型大鼠出现学习记忆能力下降,和随着年龄增长 β -半乳糖苷酶活性增强息息相关,模拟了脑老化的典型变化[16]。本实验中能通过改善海马神经细胞病理学来实现抗衰老。通过HE染色检测海马CA1区神经元的损伤情况显示,与正常对照组相较,D-半乳糖模型组大鼠海马CA1段有小范围的脊髓组织坏死,神经元胞核消失,周围较多的神经元胞体皱缩,体积变小,神经纤维结构较疏松;未见明显胶质细胞增生。而与D-半乳糖模型组相比较,中药验方组组织海马CA1区锥体细胞排列整齐有序,可见3~4层,神经元结构完整,该结果进一步验证了上述预测的结果。

祖国医学认为生物体生命的自然和社会规律是“生、长、化、收、藏”,且生命体在自然状态下进行的功能性减退是生命历程中的必由之路,由此说明人的生命不是无限的[17]。自古以来,中医一直重视养生保健之道,在《素问·四气调神大论篇》:“春三月,此谓发陈。天地俱生,万物以荣。早卧早起,广步于庭。……夏三月,此谓蕃秀。天地气交,万物华实。夜卧早起,无厌于日。……秋三月,此谓荣平。天气以急,地气以明。早卧早起,与鸡俱兴。……冬三月,此谓闭藏。水冰地坼,勿扰乎阳。早卧晚起,必待日光。”所以我们要顺应四时气候变换的规律,做好养生保健,以延缓衰老。正所谓“万物不失,生气不竭。”且在《素问·上古天真论》中谓:“夫上古圣人之教下也,皆谓之虚邪贼风,避之有时,恬淡虚无,真气从之,精神内守,病安从来”。“夫上古圣人之教下”指上古的圣人是要教育民众的,教给他们什么呢?“皆谓之虚邪贼风,避之有时”,这里的“虚邪贼风”是指那些不正常的气候变化和有害于人体的外界致病因素。比如现在我们有室内空调,但不管释放冷气还是热气,凡是太过或者不及的温度变化皆有可能导致人体患病,故也称做“虚邪贼风”。而“避之有时”,就是要在不同的时间和节气避免感受这种“虚邪贼风”。“恬淡虚无,真气从之,精神内守”就是心情要保持恬淡虚无,心定了,呼吸就自然顺畅了,精气神内守,做一个气血充盈而内心平和的人。循其道行之,则无病无痛,故曰“病安从来”?这是古人留给我们关于修身养性的道理。”祖国医学对衰老机制的研究是博大精深的。

本研究通过Morris行为学实验、海马CA1区病理学实验,并检测各组大鼠血清中**IL-2**、**IL-6**表达来研究抗衰延年方抗衰老的机制。结果表明:与正常对照组比较,模型组大鼠逃避潜伏期延长、跨越平台

次数减少, 具有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组比较, 验方组大鼠逃避潜伏期缩短、跨越平台次数增加, 统计学意义显著($P < 0.01$)。与正常对照组比较, 模型组血清 IL-2、IL-6 表达增加($P < 0.05$); 与模型组比较, 验方组血清 IL-2、IL-6 表达明显降低($P < 0.05$)。光镜下, 正常对照组海马 CA1 区锥体细胞排列整齐, 神经元结构完整; 模型组海马 CA1 区局部可见锥体细胞坏死, 神经元胞核消失、胞体皱缩, 体积变小。吡拉西坦组和中药验方组 CA1 区锥体细胞排列整齐, 数量略减少, 胞核大, 核仁明显, 胞质胞核分界清晰, 未见明显神经元变性和坏死。最后我们认为: 抗衰老方可通过降低血清中 IL-2、IL-6 改善衰老大鼠脑组织的学习记忆能力, 达到延缓衰老的目的。

基金项目

2020 年贵州省省级大学生创新创业训练计划项目(S202010662043)。

参考文献

- [1] 王雪侠, 张向前. 巴戟天醇提物对 D-半乳糖致衰老大鼠免疫功能的影响[J]. 中国医药导报, 2013, 10(4): 17-19.
- [2] 王思健. 组织蛋白酶 S 介导牙周炎巨噬细胞分泌 IL-6 的相关机制研究[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 中国医科大学, 1-3. <https://doi.org/10.27652/d.cnki.gzyku.2022.001062>
- [3] 周鸿, 霍利琴, 张静泽, 等. 舒脑欣滴丸对 D-半乳糖致阿尔茨海默病早期模型大鼠的神经保护作用及机制研究[J]. 中草药, 2016, 47(17): 3074.
- [4] 李源清. 俞才钧养生御病验方[J]. 贵阳中医学院学报, 1993, 15(3): 48.
- [5] 郭太虎, 莫明仙, 赵昌金, 等. 艾灸益气活血法对 D-半乳糖致衰老大鼠脑组织抗氧化能力的影响[J]. 云南中医中药杂志, 2018, 39(5): 77-79.
- [6] Van Deursen, J.M. (2019) Senolytic Therapies for Healthy Longevity. *Science*, **364**, 636-637. <https://doi.org/10.1126/science.aaw1299>
- [7] Hu, M.C., Kuro-o, M. and Moe, O.W. (2012) The emerging role of Klotho in clinical nephrology. *NePhrol Dial Transplant*, **27**, 2650-2657. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs160>
- [8] 丁雪燕. GAT-2 介导的 γ -氨基丁酸对 CD4⁺T 细胞分化的影响及其机制解析[D]: [博士学位论文]. 扬州: 扬州大学, 2022. <https://doi.org/10.27441/d.cnki.gyzdu.2022.000087>
- [9] 林吉, 魏宇唯, 唐中生, 等. 电针智三针对血管痴呆大鼠学习记忆及 EphA4/ephrinA3 蛋白表达影响[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(9): 38-42.
- [10] 赵凡凡, 周玉枝, 高丽, 等. D-半乳糖致衰老大鼠模型的研究进展[J]. 药学学报, 2017, 52(3): 347-354.
- [11] 曾立, 向荣. 基于 D-半乳糖致衰老大鼠模型的抗衰老药物研究进展[J]. 邵阳学院学报(自然科学版), 2018, 15(6): 108-116.
- [12] 吴媛妮, 尹晓晨, 李梓民, 等. D-半乳糖衰老模型致衰特征及衰老标志物的研究[J]. 中国热带医学, 2018, 18(7): 682-686.
- [13] Bo-Htay, C., Palee, S., Apaijai, N., et al. (2018) Effects of Dgalactose-Induced Ageing on the Heart and Its Potential Interventions. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **22**, 1392-1410. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13472>
- [14] Mariona, J., Manuel, P.O., Alba, N., et al. (2014) Metabolomics of Human Brain Aging and Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, **73**, 640-657. <https://doi.org/10.1097/NEN.0000000000000091>
- [15] 高雅婷, 陈旭, 范潇晓, 郑天宇, 刘永刚, 张园园. 基于秀丽隐杆线虫模型的棉子糖抗衰老作用研究[J]. 药物评价研究, 2024(2): 339-344.
- [16] 欧芹, 张鹏霞, 范慧晗, 等. 山茱萸多糖对 D-半乳糖致衰老大鼠学习记忆能力及 Klotho/Akt 信号通路的影响[J]. 中成药, 2022, 44(5): 1641-1644.
- [17] 师双斌, 郑洪新. “天癸”的科学内涵[J]. 国际中医中药杂志, 2013, 35(3): 262-264.