

# 益髓灸对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆及氧化应激水平的影响

黄新格<sup>1</sup> 零佩东<sup>2</sup> 罗志洪<sup>3</sup> 苏传丽<sup>4</sup> 赵利华<sup>5</sup> 陈尚杰<sup>6</sup>

(1 广西中医药大学第一附属医院壮医科, 南宁, 530023; 2 广西南宁市第一人民医院康复科, 南宁, 530001; 3 广西中医药大学研究生院, 南宁, 530001; 4 广西中医药大学第一附属医院病理科, 南宁, 530023; 5 广西中医药大学第一附属医院针灸科, 南宁, 530023; 6 南方医科大学深圳宝安医院, 深圳, 518101)

**摘要** 目的:观察益髓灸对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆和血清及脑、肾组织的 8-羟基脱氧鸟苷酸(8-OHdG)、总抗氧化能力(T-AOC)的影响,比较 2 组穴位(足三里配悬钟、百会配关元)延缓脑衰老疗效,探讨其作用机制。方法:75 只 SPF 级 3 月龄体质量为(30±2)g 雄性昆明小鼠,水迷宫检测后随机分为 5 组,每组 15 只,即生理组、造模组、艾灸 1 组(足三里+悬钟穴)、艾灸 2 组(百会+关元穴)、艾灸 3 组(非穴位)。造模组和各艾灸观察组予 D-半乳糖按 1 000 mg/(kg·d)颈背部皮下注射,同时生理组以同法注射等量的生理盐水,连续 56 d。3 组艾灸观察组于造模第 13 d 起开始艾灸,每次每穴 3 壮,灸单侧(或 2 穴),共 6 壮。生理组和造模组不做治疗性干预,但给予与各观察组同时间、程度的捉抓刺激。造模、治疗结束后,再次进行水迷宫测试,将小鼠眼球取血,断头取脑,开腹取肾,制备脑、肾组织匀浆,用酶联免疫法(ELISA)检测血清及脑、肾组织 8-OHdG、T-AOC 水平。结果:1)水迷宫结果显示:造模、治疗前各组小鼠水迷宫各项指标及学习能力比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );造模及治疗后,5 组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。其中两两比较:a. 造模及治疗后,造模组与生理组、艾灸 1 组、艾灸 2 组比较,“潜伏期、平台象比、停留时间、寻求次数、原平台象限百分比、跨越次数”6 项指标比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );b. 生理组与艾灸 3 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );艾灸 3 组与艾灸 1、2 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。2)血清及脑、肾组织 ELISA 结果示:a. 造模组血清和脑、肾组织 8-OHdG 含量显著升高,与生理组、艾灸 1 组和艾灸 2 组 3 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );生理组与艾灸 3 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),艾灸 3 组与艾灸 1、2 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。b. 造模组血清和脑、肾组织 T-AOC 水平显著降低,与生理组、艾灸 1 组和艾灸 2 组 3 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );生理组与艾灸 3 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );艾灸 3 组与艾灸 1、2 组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:益髓灸防治脑衰老的作用机制可能是通过降低 D-半乳糖诱导的 8-OHdG 表达,抑制细胞的 DNA 损伤,提高机体总抗氧化能力 T-AOC,发挥抗氧化应激损伤的作用。

**关键词** 益髓灸;D-半乳糖;脑衰老;学习记忆;氧化应激

## Effects of Tonifying Marrow Moxibustion on Learning and Memory Ability and Oxidative Stress Level of D-Galactose Induced Aging Mice

Huang Xingel<sup>1</sup>, Ling Peidong<sup>2</sup>, Luo Zhihong<sup>3</sup>, Su Chuanli<sup>4</sup>, Zhao Lihua<sup>5</sup>, Chen Shangjie<sup>6</sup>

(1 Zhuang Medicine Department, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 2 Rehabilitation Department of Nanning First Hospital, Nanning 530001, China; 3 Postgraduate College, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 4 Pathology Department, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 5 Acupuncture and Moxibustion Department, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 6 Shenzhen Bao'an Hospital Affiliated to Southern Medical University, Shenzhen 518101, China)

**Abstract Objective:** To observe the effects of Tonifying marrow moxibustion on learning and memory ability, expression of 8-OHdG and T-AOC in serum and cerebral and nephridial tissues in D-galactose induced aging mice, and to explore the mechanism by comparing points of the two groups (ST36 and GB39, DU20 and RN4) in the effect of delaying aging. **Methods:** A total of 75 SPF Kunming male mice (3 months old, weight: 30±2g) were randomly and equally divided into the normal physiology group, model group, moxibustion 1 group (ST36 and GB39), moxibustion 2 group (DU20 and RN4) and moxibustion 3 group (non-acupuncture) after Morris Water Maze Test. Mice in treatment and model groups were injected subcutaneously back of necks by 1000 mg/kg/day of D-galactose for 56 days, while mice in the normal physiology group were injected the same dosage of normal sodium in the same way for 56 days. Mice in the treatment groups were treated with moxibustion with 3 segments /point/time, uni-

基金项目:国家自然科学基金课题(81360561);广东省科技计划(2013B021800099);深圳市科技计划(JCYJ20150402152005642)

作者简介:黄新格(1988.08—),女,硕士,住院医师,研究方向:针灸延缓衰老的机制研究,E-mail:511937296@qq.com

通信作者:赵利华(1967.10—),女,教授,博士,研究方向:针灸防治老年病、针灸体质调养、针刺手法研究,E-mail:zhaolh67@163.com

lateral or two points (altogether 6 segments) every day from the 13th day after molding. Mice in the normal physiology group and model group were not treated with therapeutic intervene, but to give catching stimulation for the same time and degree as the treatment groups. After modeling and treatment, all rats were tested by Morris Water Maze Test. The eyeball blood was taken, and cerebral tissue was collected by beheading. And kidney was taken by laparotomy to prepare the cerebral and kidney tissue homogenate. Expression of 8-OHdG and T-AOC in serum and the cerebral and kidney tissues were detected by ELISA method. **Results:** 1) The Morris Water Maze results showed that, before modeling and treatment, there were no difference of learning and memory among the model and the other four groups in the indicators of Morris Water Maze Test ( $P > 0.05$ ); There were no significant differences among the five groups after modeling and treatment ( $P < 0.05$ ). Comparison between any two means showed that, 1) After modeling and treatment, there were significant difference compared with modeling group, normal physiology group, moxibustion 1 group and moxibustion 2 group, the indexes of "incubation, platform quadrant ratio, standing time, seeking time, the percentage of the original platform and crossing platform time" all had significant differences; 2) Compared with the physiology group and the moxibustion 3 group, there was significant difference ( $P < 0.05$ ); Compared with the moxibustion 3 group and the moxibustion 1 and moxibustion 2 group there was significant difference ( $P < 0.05$ ). 2) The ELISA results of the serum and cerebral-kidney tissue showed: 1) the contents of 8-OHdG in the serum and cerebral-kidney tissue of model group were higher than that of the physiology group, moxibustion 1 group, moxibustion 2 group and moxibustion 3 group, which had statistic differences ( $P < 0.05$ ); compared with physiology group and the moxibustion 3 group, there was significant difference ( $P < 0.05$ ). 2) The contents of T-AOC in the serum and cerebral-kidney tissue of model group were significantly lower than those in the physiology group, compared with moxibustion 1 group, moxibustion 2 group and moxibustion 3 group, which had statistic differences ( $P < 0.05$ ); compared with the physiology group and moxibustion 3 group, there was significant difference ( $P < 0.05$ ); there were significant differences compared moxibustion 1 group and moxibustion 2 group with moxibustion 3 group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The mechanism of tonifying marrow moxibustion in preventing brain aging may be related to decreasing the expression of 8-OHdG which induced by D-galactose, inhibiting the damage cell DNA, increasing the content of T-AOC, and improve function of the anti-oxidative stress injury.

**Key Words** Tonifying Marrow Moxibustion; D-galactose; Brain aging; Learning and memory ability; Oxidative Stress

中图分类号: R245 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.01.038

氧化应激(Oxidative Stress, OS)被认为是与多种脑衰老相关的神经退行性疾病发病过程中的重要因素之一<sup>[1]</sup>。故抗 OS 损伤已成为改善与脑衰老相关的神经退行性疾病的新思路及新靶点。针灸在脑衰老的预防及治疗方面均有独特的优势。有关研究<sup>[2-4]</sup>证实艾灸的燃烧物具有抗氧化能力,本研究通过观察益髓灸对 D-半乳糖模型小鼠学习、记忆能力及 OS 水平的影响,比较足三里配悬钟、百会配关元 2 组穴位处方抗氧化延缓脑衰老的效应,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 健康 3 月龄昆明雄性小鼠 75 只,体重(30 ± 2)g,均由广西医科大学动物中心 SPF 实验室提供(动物许可证号:SCXK 桂 2003-0003)。用 Morris 水迷宫实验筛选神经发育、学习记忆功能正常、游泳距离不低于 2 600 cm/2 min、体质量不低于 28 g 健康雄性小鼠 75 只,按随机数字表随机分为 5 组,15 只/组,即:生理组、造模组、艾灸 1 组(足三里 + 悬钟穴)、艾灸 2 组(百会 + 关元穴)、艾灸 3 组(非穴位)。各组小鼠饲养条件均相同,饲养于广西中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室(合格证号:

桂 E 动字第 11004 号),室温保持在(24 ± 2)℃,相对湿度 65%,12 h 昼夜交替,自由摄食和饮用纯净水。

1.1.2 药物 精制艾绒(苏州东方艾绒厂);D-半乳糖(国药集团(上海)化学试剂有限公司,批号:20131105);生理盐水(贵州天地药业有限责任公司,批号:A14051104)。

1.1.3 试剂与仪器 4% 多聚甲醛固定液、1xPBS 磷酸盐缓冲液(武汉博士德生物工程有限公司,批号:AR1069、AR0030);小鼠 8-羟基脱氧鸟苷酸(8-OHdG)、小鼠总抗氧化能力(T-AOC)酶联免疫测定试剂盒(上海联硕生物科技有限公司,批号:DRE660Mu 201412、DRE006Mu 201412)。泰盟 TM-Vision 实验行为学 Morris 水迷宫系统(北京中科院生理所);电子天平(FA2204B 型,上海精天美科学仪器有限公司);海尔超低温保存箱(DW-86L490 型,国产);Thermo Fisher Scientific 离心机(Sorvall ST16 型,德国);电热恒温培养箱(DWP-P162,上海精密实验设备有限公司);制冰机(YN-80D 型,上海因纽特制冷设备有限公司);脱色摇床(TS-2000A,海门市其林贝尔仪器制造有限公司);超声波信号发生器、超声波细胞粉碎机隔音箱(上海比朗仪器有限公司);纯水仪(Aqualix-5 型,美国);全波长酶标仪

(EPOCH BIOTEK 型,美国)。

## 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 参照文献<sup>[5-7]</sup>配制 D-半乳糖溶液,将 D-半乳糖试剂与生理盐水按 10 g:100 mL 混匀为 100 mg/mL。水迷宫行为测试后,造模组、艾灸 1 组、艾灸 2 组、艾灸 3 组颈背部皮下注射 D-半乳糖 1 000 mg/(kg·d)(相当于每 10 g 体质量注射 0.1 mL 浓度为 10% 的 D-半乳糖溶液),同时生理组以同法每 10 g 体质量注射 0.1 mL 剂量的生理盐水,连续 56 d。

1.2.2 干预方法 造模第 13 d 起,各观察组开始艾灸治疗,3 壮/次·穴,灸单侧(或 2 穴),共 6 壮。时间为每天上午 10:00—12:00,下午 3:00—4:30。治疗 1 次/d,共 44 次。艾灸 1 组穴位为“足三里”“悬钟”,其中足三里先灸,悬钟后灸,单日灸左侧,双日灸右侧;艾灸 2 组穴位为“百会”“关元”,其中百会先灸,关元后灸;艾灸 3 组灸腕背关节上 1 mm(简称腕上)和膝髌正中上沿上 2 mm(简称髌上),其中腕上先灸,髌上后灸。小鼠穴位定位参考林文注《实验针灸学》和胡元亮《实验动物针灸手册》<sup>[8-9]</sup>，“足三里”取小鼠膝关节下方,腓骨小头下 0.3 cm 处肌沟中;“悬钟”取后肢腓骨后缘处,外踝尖直上 0.5 cm;“百会”位于顶骨正中处,约两耳连线中点前 0.2 cm,“关元”位于腹正中线脐下 1 cm 处。艾灸前先将穴位处剪毛,涂少量凡士林粘固艾炷并防止小鼠皮肤烧伤。将艾炷点燃,灸至小鼠挣扎时更换,每壮约 18~20 s,灸完后用棉签按压穴位。艾炷制作要求紧而结实,底座直径 1.5 mm,高 6 mm,重约 12~14 mg。生理组和造模组只给予与各观察组同时时间、程度的捉抓刺激,不做治疗性干预。

1.2.3 检测指标与方法 用水迷宫实验测定小鼠的学习记忆力。先进行 5 d 的定位航行试验,观察潜伏期、平台象限百分比、停留时间、寻求次数。最后进行 1 d 的空间探索实验,观察原平台象比(简称“原象比”)、跨越平台次数(简称“跨台次数”)。以上指标均能综合反映出小鼠的学习、记忆及运动行为能力。治疗结束(即艾灸满 44 次),进行水迷宫再测试后,将各组小鼠眼球取血,低温离心机 3 000 r/min 离心 20 min,收集血清上清液,样本置 -20℃ 保存,待测。断头取脑,开腹取肾,按试剂说明书制备 10% 的脑、肾组织匀浆,以 2 500 r/min 低温离心 10~15 min,提取上清液,样本置 -20℃ 保存,待测。血清及脑、肾组织匀浆 8-OHdG、T-AOC 含量的测定

均采用酶联免疫吸附(ELISA)实验技术,严格按试剂盒说明书要求测各项指标。

1.3 统计学方法 所有实验数据用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计学分析。各组定位航行实验指标进行重复测量数据分析,各组空间探索实验、血清及脑、肾组织 8-OHdG、T-AOC 指标进行多个样本均数的方差分析以及均数间两两比较(LSD 法),以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  为差异有统计学意义。如果出现方差不齐,经数据转换后使方差齐,再进行检验。

## 2 结果

### 2.1 实验前后 Morris 水迷宫学习记忆行为测定

结果显示:1)造模、治疗前各组在定位航行、空间探索各指标差异不显著,提示各组小鼠的学习记忆能力一致,无差别。2)造模、治疗后,造模组与生理组、艾灸 1 组、艾灸 2 组比较,“潜伏期、平台象比、停留时间、寻求次数、原平台象限百分比、跨越次数”6 项指标,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),与艾灸 3 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );生理组与艾灸 1 组、艾灸 2 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与艾灸 3 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );艾灸 1 组与艾灸 2 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );艾灸 3 组与艾灸 1、2 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1~2。

### 2.2 益髓灸对 D-半乳糖衰老小鼠 OS 水平的影响

#### 2.2.1 益髓灸对 D-半乳糖衰老小鼠 8-OHdG 的影响

结果显示,造模组血清和脑、肾组织 8-OHdG 含量较生理组、艾灸 1 组和艾灸 2 组显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),与艾灸 3 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );生理组与艾灸 1 组、艾灸 2 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与艾灸 3 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );艾灸 1 组与艾灸 2 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );艾灸 3 组与艾灸 1、2 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

#### 2.2.2 益髓灸对 D-半乳糖衰老小鼠 T-AOC 的影响

结果显示,造模组血清和脑、肾组织 T-AOC 水平较生理组、艾灸 1 组和艾灸 2 组显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与艾灸 3 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );生理组与艾灸 1 组、艾灸 2 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),与艾灸 3 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );艾灸 1 组与艾灸 2 组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );艾灸 3 组与艾灸 1、2 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表1 造模及治疗前水迷宫各项指标记录结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	潜伏期	平台象比	停留时间	寻求次数	原象比	跨越次数
生理组(n=15)	26.86 ± 2.23*	45.39 ± 1.57*	2.67 ± 0.13*	1.20 ± 0.07*	28.39 ± 6.82*	7.07 ± 2.22*
造模组(n=14)	28.14 ± 2.31	43.64 ± 1.63	2.64 ± 0.13	1.25 ± 0.07	27.56 ± 6.42	6.93 ± 4.21
艾灸1组(n=14)	27.06 ± 2.31*▲	46.68 ± 1.63*▲	2.67 ± 0.13*▲	1.21 ± 0.07*▲	32.75 ± 8.72*▲	5.21 ± 4.25*▲
艾灸2组(n=15)	27.68 ± 2.23*▲	45.51 ± 1.57*▲	2.80 ± 0.13*▲	1.34 ± 0.07*▲	31.10 ± 5.71*▲	7.07 ± 3.99*▲
艾灸3组(n=15)	27.90 ± 2.23 <sup>△</sup>	43.72 ± 1.57 <sup>△</sup>	2.79 ± 0.1 <sup>△</sup>	1.33 ± 0.0 <sup>△</sup>	30.20 ± 7.20 <sup>△</sup>	7.06 ± 3.75 <sup>△</sup>

注:与造模组比较,\* $P < 0.05$ ;与生理组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;与艾灸3组比较,▲ $P < 0.05$

表2 造模及治疗后水迷宫各项指标记录结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	潜伏期	平台象比	停留时间	寻求次数	原象比	跨越次数
生理组(n=15)	19.70 ± 1.78*	49.70 ± 1.17*	3.06 ± 0.08*	1.54 ± 0.06*	32.75 ± 6.88*	6.87 ± 2.70*
造模组(n=14)	29.58 ± 1.85	41.29 ± 1.21	2.52 ± 0.08	1.23 ± 0.06	25.44 ± 4.26	4.50 ± 2.80
艾灸1组(n=14)	22.78 ± 1.85*▲	47.11 ± 1.21*▲	3.05 ± 0.08*▲	1.54 ± 0.06*▲	31.10 ± 5.71*▲	6.71 ± 1.77*▲
艾灸2组(n=15)	23.22 ± 1.78*▲	46.40 ± 1.17*▲	2.98 ± 0.08*▲	1.49 ± 0.06*▲	30.60 ± 4.37*▲	6.60 ± 1.72*▲
艾灸3组(n=15)	29.36 ± 1.78 <sup>△</sup>	42.92 ± 1.17 <sup>△</sup>	2.72 ± 0.08 <sup>△</sup>	1.28 ± 0.06 <sup>△</sup>	26.39 ± 3.85 <sup>△</sup>	4.93 ± 2.92 <sup>△</sup>

注:与造模组比较,\* $P < 0.05$ ;与生理组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;与艾灸3组比较,▲ $P < 0.05$

表3 益髓灸对D-半乳糖衰老小鼠8-OHdG的影响( $\bar{x} \pm s$ , ng/L)

组别	血清	脑组织	肾组织
生理组(n=15)	58.21 ± 6.33*	65.80 ± 8.45 <sup>△</sup>	107.72 ± 6.20*
造模组(n=14)	70.18 ± 6.06	82.49 ± 11.45	121.00 ± 11.95
艾灸1组(n=14)	58.62 ± 7.59*▲	63.6 ± 10.16*▲	108.75 ± 5.04*▲
艾灸2组(n=15)	59.46 ± 6.94*▲	67.98 ± 6.92*▲	110.89 ± 10.72*▲
艾灸3组(n=15)	70.04 ± 8.36 <sup>△</sup>	76.12 ± 7.79 <sup>△</sup>	119.38 ± 10.26 <sup>△</sup>

注:与造模组比较,\* $P < 0.05$ ;与生理组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;与艾灸3组比较,▲ $P < 0.05$

表4 益髓灸对D-半乳糖衰老小鼠T-AOC的影响( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

组别	血清	脑组织	肾组织
生理组(n=15)	6.45 ± 0.58*	6.34 ± 0.53*	7.14 ± 2.06*
造模组(n=14)	5.73 ± 0.86	3.43 ± 0.47	4.06 ± 2.18
艾灸1组(n=14)	6.90 ± 0.54*▲	6.27 ± 0.42*▲	6.95 ± 1.62*▲
艾灸2组(n=15)	6.92 ± 0.36*▲	6.18 ± 0.39*▲	6.68 ± 2.11*▲
艾灸3组(n=15)	5.81 ± 1.01 <sup>△</sup>	3.77 ± 0.71 <sup>△</sup>	4.58 ± 2.59 <sup>△</sup>

注:与造模组比较,\* $P < 0.05$ ;与生理组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ;与艾灸3组比较,▲ $P < 0.05$

### 3 讨论

中医学认为,脑衰老病位在脑,病机为脑髓失养。《医林改错》记载“高年无记性者,脑髓渐空。”OS是脑损伤、认知功能障碍甚至老年性痴呆等脑衰老相关疾病的重要诱因<sup>[10]</sup>。而由OS导致的脑功能减退在一定程度上属于“脑衰老”范畴<sup>[11]</sup>。

活性氧簇(Reactive Oxygen Species, ROS)是体内一类活性含氧化合物的总称,主要包括超氧阴离子基团、过氧化氢自由基、羟自由基等。在疾病或某些外源性物质刺激下,ROS快速释放并在体内过度蓄积,OS超出机体抗氧化能力,进而造成DNA的氧化损伤<sup>[12]</sup>。DNA氧化损伤与老化相关退行性疾病,如癌症、心血管疾病、糖尿病等密切相关<sup>[13]</sup>。8-

OHdG是ROS致DNA氧化损伤的产物,因其特异性强、结构稳定、容易采集等特点,已被公认为最能反映机体DNA氧化损伤的理想生物指标,在OS领域内被广泛采用<sup>[14]</sup>。体内总抗氧化能力(Total Antioxidant Capacity, T-AOC)可全面的反映了酶与非酶整个防御体系的抗氧化能力,是一个全面反映机体抗氧化力的良好指标<sup>[15]</sup>。研究证实,机体整体抗氧化能力的高低与T-AOC含量成正比<sup>[16]</sup>。

针灸抗氧化延缓脑衰老的近代研究已取得一定进展,但大多数多局限于常见的OS标志物上,如SOD、CAT、GSH等<sup>[17-18]</sup>。而进一步从分子蛋白角度探讨针灸的抗氧化损伤机制较少,且对抗衰老选穴的横向比较研究少见,基于此,本研究以益髓灸处方为研究对象,将艾灸1组(足三里+悬钟)和艾灸2组(百会+关元)2组穴位处方比较观察,结果显示2组各指标组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),提示2组穴位都可从抗OS损伤角度发挥抗衰老作用,故临床应用时可交替使用。但多数指标中艾灸1组良性趋势较明显,其原因可能是:悬钟为髓会,《难经疏》曰:“髓病治此”;悬钟为胆经穴位,胆经“主骨所生病”,而肾主骨,骨生髓,故悬钟可补骨(肾)生髓。足三里为胃经的土穴,脾胃为后天之本,有健脾益气之功。故两穴合用可脾肾双补,健脾补肾生髓。百会属督脉,为髓海之气传输之处,《灵枢·海论》指出:“脑为髓之海,其输上在其盖,下在风府。”其中“盖”为百会穴,其与脑髓关系极其密切。关元属任脉,为元阴元阳关藏之所,足三阴与任脉交会于此,故关元既可补益肝脾肾三脏,又可调节全身阴经之气。2穴合用可调和任督,补脾益肾生

髓。综上所述,艾灸1组和艾灸2组2组穴位处方都可健脾补肾生髓,在抗氧化相关指标上前者更显现良性趋势,因悬钟穴使其补肾作用更强,而具体机制还需进一步深入研究。艾炷灸非穴位虽在一定程度上改善了衰老小鼠的学习记忆功能,但大部分指标仅呈现改善趋势,未体现统计学意义,其原因可能是由于艾炷灸时对局部皮肤的灸灼而引起生物物理效应<sup>[19]</sup>。

本研究结果提示,益髓灸防治脑衰老的作用机制可能是通过降低D-半乳糖诱导的8-OHdG表达,抑制细胞的DNA损伤,提高机体T-AOC,发挥抗OS损伤的作用来实现的,其中“足三里+悬钟”较“百会+关元”良性趋势更明显,具体机制还有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 保志军,竺越,陆佩芳,等.衰老与AD同时平行研究的重要性[J].中国老年学杂志,2011,31(6):2131-2133.
- [2] 刘钧天,黄畅,刘耀萌,等.艾灸各因素对APP/PS-1双转基因AD小鼠脑中DNA、蛋白质、脂质氧化应激的影响[J].中华中医药杂志,2015,30(5):1375-1379.
- [3] 王彩霞.针灸对亚急性衰老模型小鼠皮肤的抗衰老作用研究[J].中国中医基础医学杂志,2014,20(11):1544-1546.
- [4] 容贤冰,邓武装,蒋晓明,等.艾灸足三里穴与关元穴对训练小鼠免疫功能的影响[J].重庆医学,2014,43(17):55-57.
- [5] 龚国清,徐本.小鼠衰老模型研究[J].中国药科大学学报,1991,22(2):101-103.
- [6] 竺平晖.鹰嘴豆异黄酮提取物对D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力的影响[J].中草药,2011,42(5):969-971.
- [7] 张莹莹,王银环,史亚,等.金银花水煎剂对D-半乳糖致衰老模型小鼠的抗氧化作用[J].浙江中医药大学学报,2014,8(3):321-326.
- [8] 林文注,王佩.实验针灸学[M].上海:上海科学技术出版社,

- 1999:87.
- [9] 胡元亮.实用动物针灸手册[M].2版.北京:中国农业出版社,2003:379.
- [10] Haddadi M, Jahromi SR, Sagar BK, et al. Brain aging, memory impairment and oxidative stress; a study in drosophila melanogaster [J]. behav brain res, 2014, 259(2): 60-69.
- [11] 黄新格,零佩东,赵利华. D-半乳糖 AD 模型与中医脑衰老证候病机关系的探讨及在针灸防治脑衰老中的应用[J]. 世界中医药, 2015, 10(12): 1983-1986.
- [12] Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress[J]. The American Journal of Physiology-Cell Physiology, 2008, 295(4): 849-868.
- [13] 陈春,于嘉屏. 8-羟基-2-脱氧鸟苷检测方法及其临床意义研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(21): 3145-3146.
- [14] 赵虹,骆庆,和殷明,等.氧化应激与阿尔茨海默病[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(16): 4090-4093.
- [15] 刘磊,孟春阳,李鹏,等. 锌对脊髓缺血再灌注损伤大鼠 ATP 酶、MAO 活性和 T-AOC 含量影响的研究[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(1): 10-13.
- [16] 徐红艳,刘富国,于阳阳,等. 东北山核桃仁油对 D-半乳糖衰老小鼠抗氧化能力的影响[J]. 食品学, 2012, 33(7): 266-269.
- [17] Yu YP, Ju WP, Li ZG, et al. Acupuncture inhibits oxidative stress and rotational behavior in 6-hydroxydopamine lesioned rat[J]. Brain Research, 2010, 1336(6): 58-65.
- [18] Zhang X, Wu B, Nie K, et al. Effects of acupuncture on declined cerebral blood flow, impaired mitochondrial respiratory function and oxidative stress in multi-infarct dementia rats[J]. Neurochemistry International, 2014, 65(1): 23-29.
- [19] 陈丽蓉,潘小霞,陈明明,等. 朱瑾针刺兴奋法对缺血性脑损伤幼鼠脑组织氧化应激的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2016, 38(3): 238-241.
- [20] 陈春兰,施征. 化脓灸法临床应用及研究概况[J]. 河南中医, 2013, 33(2): 262-265.

(2016-08-09 收稿 责任编辑:张文婷)

## 《世界中医药》杂志中药研究栏目征稿通知

《世界中医药》杂志(CN 11-5529/R;ISSN 1673-7202)由国家中医药管理局主管,世界中医药学会联合会主办,创刊于2006年,是中国第一本面向国内外公开发行的中医药类综合性学术期刊,月刊。2009年被国家科技部收录为“中国科技核心期刊”。杂志全文收录在《中国期刊全文数据库》《中文科技期刊数据库》《中国核心期刊数据库》《中文科技期刊综合评价数据库》《美国乌利希期刊指南收录期刊数据库》《美国化学文摘CA收录期刊数据库》等一系列检索系统。《世界中医药》杂志为世界中医药学会联合会的会刊,目前,该会已经成立了26个中药相关专业(如中药、中药新剂型、中药药剂、中药分析、中药化学、中药药理、药材资源、中药鉴定、方剂、中药饮片等)委员会,这些专业委员会在各自的学科建设、学术交流、人才培养等方面都发挥着重要的作用,本杂志与各专业委员会联手,产、学、研、用、政结合,优化学科建设,解决中药领域面临的实际困难,实现“学术、创新、转化、共赢”为目的,共同推动学科的发展,在中药领域的推广应用等方面做出了突出贡献。

本杂志近几年稳步发展,办刊质量逐步提升,影响不断扩大,2016年度科技核心期刊的各项指标统计数据,《世界中医药》杂志(中文刊)核心影响因子为0.697,在同类期刊中上升至第4名,自2009年9月进入统计源期刊以来,连续第9年被评定为中国科技核心期刊。杂志设置“中药研究”栏目,陆续宣传展示国内外中药学研究进展和最新动态,是中药研究高学术水平的交流平台。如果您致力于中药领域的研究,请将您在新药研发、中药资源与鉴定、中药分析、药剂学、中药化学、药理、不良反应等方向的新成果、新技术、新方法与新思路撰写成有创新性的文章或综述,在本杂志出版发表,内容以8500字符以上为宜,稿件一经录用,优先安排发表。

欢迎您踊跃投稿!

投稿请通过《世界中医药》杂志社官方网站:www.sjzyyz.com,“在线投稿”入口注册投稿,并注明“中药征稿”字样。

联系电话:0086-10-58650023,58239055;

传真:0086-10-58650236;E-mail:sjzyyz@vip.126.com