

# 淫羊藿女贞子配伍(4:3)影响自然衰老大鼠脾脏及胸腺的研究

马紫童 王雪帆 唐秀凤 高莹莹 王 瀚 刘仁慧

**摘 要** **目的** 探讨自然衰老大鼠胸腺及脾脏的病理和脾脏自由基损伤的增龄性改变,并研究淫羊藿女贞子单用及配伍作用的差异。**方法** 8月龄雄性SD大鼠,随机分为7组,饲养至相应月龄,包括9月龄组、12月龄组、15月龄组、17月龄组、淫羊藿组、女贞子组、淫羊藿女贞子组(配伍组),以3、6月龄雄性大鼠为青年对照组。各用药组饲养至15月龄后开始灌胃给予相应药物2个月后处死。剖取脾脏和胸腺。计算脏器指数,HE染色观察病理改变,检测脾脏总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、一氧化氮(nitric oxide, NO)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平。**结果** 与青年大鼠比较,17月龄老年大鼠脾脏及胸腺出现退行性的病理改变,且脾脏出现自由基累积,抗氧化能力减弱。与17月龄大鼠比较,淫羊藿女贞子配伍组能显著改善脾脏及胸腺退行性病理改变,增加脾脏SOD水平( $P < 0.01$ )。基于多层感知(multi-layer perceptron, MLP)神经网络模型进行综合分析,证实配伍组对自然衰老大鼠脾脏及胸腺的综合作用,但该作用与淫羊藿、女贞子单用比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 淫羊藿女贞子合用能够延缓免疫器官的衰老相关的退行性的改变。

**关键词** 衰老 淫羊藿/女贞子 免疫器官 病理改变 抗氧化

**中图分类号** R285.5

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.04.014

**Effects of Herba Epimedii and Fructus Ligustrilucidi in Compatibility (4:3) on Spleed and Thymus Gland in the Aing Rats.** Ma Zitong, Wang Xuefan, Tang Xiufeng, et al. Capital Medical University, Beijing 100069, China

**Abstract** **Objective** To research the effects of Herba Epimedii and Fructus Ligustrilucidi on the pathological changes of spleed and thymus gland and free radical injury of spleed in the aging rats. **Methods** Male SD rats aged 8 months were randomly divided into 7 groups, including 9-month group, 12-month group, 15-month group, 17-month group, Herba Epimedii group, Fructus Ligustrilucidi group, and compatibility group. 3-month and 6-month male rats were used as the youth control group. Spleed and thymus gland were extracted. Viscera index and pathology changes in spleed and thymus gland were study. Total antioxidant capacity (T-AOC), superoxide dismutase (SOD), nitric oxide (NO) and malondialdehyde (MDA) in spleed were tested. **Results** Compared with young rats, the degenerative pathological changes of spleed and thymus gland, the accumulation of free radicals and weakened antioxidant capacity in spleed were observed in 17-month group. Compared with 17-month group, compatibility group improved degenerative pathological changes and increased SOD in spleed. The study of multi-layer neural network model confirmed that comprehensive effects of the compatibility group on spleed and thymus gland in natural aging rats. **Conclusion** The combination of Herba Epimedii and Fructus Ligustrilucidi can delay the degenerative pathological changes of immune organs.

**Key words** Aging; Herba Hpimedii/Fructus Ligustrilucidi; Immune organs; Pathological changes; Antioxidation

随着社会的发展、医学的进步,人类平均寿命不断增高,人口老龄化已成为全世界面临的一个严重的社会问题<sup>[1]</sup>。延缓衰老以减轻衰老引发的慢性疾病

在人口日益老龄化的中国尤其具有重要意义。有研究证实,自然衰老大鼠出现免疫器官胸腺及脾脏的增龄性退化,且与氧化损伤的累积有一定关系<sup>[2]</sup>。淫羊藿、女贞子是临床常用的延缓衰老的补肾中药,二者配伍具有平调肾中阴阳之功,是国家级名老中医李世增教授积50余年的临床经验所总结的,常用于治疗衰老相关疾病的药对。前期实验研究表明,淫羊藿和女贞子配伍对于慢性衰老相关疾病骨质疏松以及慢性肺部疾病哮喘均有显著疗效<sup>[3,4]</sup>。文献报道,淫羊藿、女贞子均有良好的免疫调节及抗氧化作用,但

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81673993);国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教函[2018]134号);首都医科大学“本科生科研创新”项目(XSKY2019101)

作者单位:100069 北京,首都医科大学中医药学院、中医络病研究北京市重点实验室

通讯作者:刘仁慧,副教授,硕士生导师,电子信箱:gzbhrh45@ccmu.edu.cn

对于衰老过程中免疫器官的退化及氧化损伤的作用尚未有研究<sup>[5,6]</sup>。本研究基于上述认识,选择自然衰老大鼠模型,通过检测胸腺及脾脏退行性的病理改变及脾脏自由基水平的改变,结合神经网络模型进行综合评价,探讨中药淫羊藿和女贞子单用及配伍对免疫器官衰老的影响作用的差异<sup>[7]</sup>。

### 材料与方法

1. 实验动物:SPF 级 3 月龄(8 只)、6 月龄组(8 只)、8 月龄(56 只)健康雄性 SD 大鼠,由北京维通利华实验动物技术股份有限公司提供,实验动物合格证号:SCXK(京)2016-0006,动物伦理学号:AEEI-2016-178。

2. 试剂:总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)检测试剂盒(货号:A015-1)、一氧化氮(nitric oxide, NO)测定试剂盒(货号:A013-2)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒(货号:A003-1)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定试剂盒(货号:A001-3)均购于南京建成生物工程研究所。

3. 实验仪器:电动匀浆机(上海精密仪器仪表有限公司);SpectraMax Plus 385 全波长酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);全自动生化仪(日本奥林巴斯株式会社,型号:AU480);尼康(日本 Nikon 公司)ECLIPSE 80i 生物显微镜及 NIS-Elements BR 3.2 图像分析软件(北京锐驰恒业仪器科技有限公司)。

4. 药材及煎煮方法:中药饮片炙淫羊藿(批号:23820701,产地:陕西)及酒女贞子(批号:170517003,产地:甘肃)购于北京同仁堂药店,由北京美康唐医药科技有限公司炮制加工。分别称取适量的淫羊藿饮片、女贞子饮片、淫羊藿女贞子饮片配伍(4:3)制备淫羊藿煎剂、女贞子煎剂及淫羊藿女贞子煎剂。首煎加 8 倍体积的水浸泡 1h 后加热煮沸,文火保持沸腾 30min,搅拌,趁热滤取药液;药渣再加原药量 6 倍的水加热煮沸,改文火续煎 30min 后过滤,合并两次药液,浓缩后 4℃ 保存。

5. 分组及给药:8 月龄大鼠随机分为 7 组,包括 9 月龄组、12 月龄组、15 月龄组、17 月龄组、淫羊藿女贞子组(配伍组)、淫羊藿组、女贞子组,每组 8 只。SPF 级 3 月龄(8 只)、6 月龄(8 只)作为青年对照组。17 月龄组、淫羊藿组、女贞子组、配伍组正常饲养至 15 月龄后分别给予等体积的蒸馏水、淫羊藿煎剂 0.20g/ml、女贞子煎剂 0.15g/ml、淫羊藿女贞子煎剂 0.35g/ml 体重(相当于临床等效剂量)灌胃,连续 2

个月。

6. 处死及取材:3、6 月龄组大鼠购买后适应环境 1 周后处死;9、12、15、17 月龄组饲养至相应月龄后处死;各给药组饲养至 17 月龄后处死。禁食 16h 后,称重。腹腔注射乌拉坦麻醉后,剖取脾脏、胸腺。称重后,切除一部分放入 10% 甲醛固定;其余迅速放入液氮,后转入 -80℃ 冰箱保存。

7. 检测方法:脏器指数 = 脏器重量(g)/体质量(g)。每组取 7 只样本,行组织 HE 染色切片,每张切片在 200 倍镜下选取 3 个不同的视野进行测量病理学参数,计算平均值。脾组织病理学参数:参考文献[8]测量脾小体直径。胸腺的病理学参数:参考文献[9]测量皮质/总面积、髓质/总面积。制备脾脏匀浆,采用考马斯亮蓝法测定匀浆上清中蛋白含量;微板法测定匀浆中 NO 测水平;比色法测定 T-AOC 水平;WST-1 法测定 SOD 测水平;TBA 法测定 MDA 水平。以上检测均按照测试盒说明书进行。

8. 统计学方法:采用 SPSS 18.0 统计学软件对数据进行统计分析,数据采用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用方差齐性检验及单因素方差分析,根据方差齐性检验结果选择 LSD(方差齐)或 Tamhane's T2(方差不齐);综合分析采用神经网络分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 大鼠脾脏指数及病理的增龄性改变及淫羊藿女贞子的影响:与 3 月龄组比较,12、15、17 月龄组脾脏重量显著升高( $P$  均  $< 0.01$ ),9、12、15、17 月龄组脾脏指数显著降低( $P$  均  $< 0.01$ ),各组脾小体直径显著降低( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。与 6 月龄组比较,15、17 月龄组脾脏指数及脾小体直径显著降低( $P$  均  $< 0.01$ )。与 17 月龄衰老大鼠比较,淫羊藿组、女贞子组和配伍组脾小体直径均显著增加( $P$  均  $< 0.01$ ,表 1,表 2,图 1)。

表 1 不同月龄组大鼠脾脏指数及脾小体直径的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	脾脏重量(g)	脾脏指数(%)	脾小体直径(μm)
3 月龄组	12.50 ± 2.64	2.79 ± 0.53	277.31 ± 32.52
6 月龄组	14.52 ± 1.43	2.50 ± 0.40	244.03 ± 18.66 <sup>*</sup>
9 月龄组	14.84 ± 2.16	2.25 ± 0.30 <sup>**</sup>	240.73 ± 30.35 <sup>*</sup>
12 月龄组	16.81 ± 2.71 <sup>**</sup>	2.14 ± 0.35 <sup>**</sup>	216.44 ± 21.54 <sup>**</sup>
15 月龄组	16.89 ± 1.82 <sup>**</sup>	2.12 ± 0.32 <sup>**</sup>	197.87 ± 14.61 <sup>**△#</sup>
17 月龄组	15.97 ± 3.31 <sup>**</sup>	1.97 ± 0.28 <sup>**△</sup>	186.11 ± 18.04 <sup>**△#▲</sup>

与 3 月龄组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ;与 6 月龄组比较,<sup>△</sup> $P < 0.01$ ;与 9 月龄组比较,<sup>#</sup> $P < 0.01$ ;与 12 月龄组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.05$ ;脾脏重量及指数: $n = 8$ ;脾小体直径: $n = 7$

表 2 淫羊藿女贞子对衰老大鼠脾脏指数及脾小体直径的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	脾脏重量(g)	脾脏指数(%)	脾小体直径( $\mu\text{m}$ )
17 月龄组	15.97 $\pm$ 3.31	1.97 $\pm$ 0.28	186.11 $\pm$ 18.04
淫羊藿组	15.73 $\pm$ 2.83	2.27 $\pm$ 0.46	223.89 $\pm$ 18.74 *
女贞子组	14.70 $\pm$ 2.58	1.96 $\pm$ 0.20	216.32 $\pm$ 16.29 *
配伍组	15.81 $\pm$ 2.28	2.20 $\pm$ 0.31	227.07 $\pm$ 16.86 *

与 17 月龄组比较, \*  $P < 0.01$ 。脾脏重量及指数:  $n = 8$ ; 脾小体直径:  $n = 7$

2. 大鼠脾脏 T - AOC、SOD、MDA 及 NO 的增龄性改变及淫羊藿女贞子的影响: 不同年龄组大鼠脾脏 T - AOC、SOD、NO 水平在 6 月龄组达到峰值, 之后随着月龄的增加而逐渐降低; 而脾脏 MDA 水平在 6 月龄最低, 之后随着月龄的增加而逐渐升高 ( $P$  均  $< 0.01$ )。与 17 月龄老年大鼠比较, 各用药组大鼠脾脏 SOD 水平均显著升高 ( $P$  均  $< 0.01$ ); 且配伍组的作用优于淫羊藿单用组 ( $P < 0.05$ , 表 3, 表 4)。

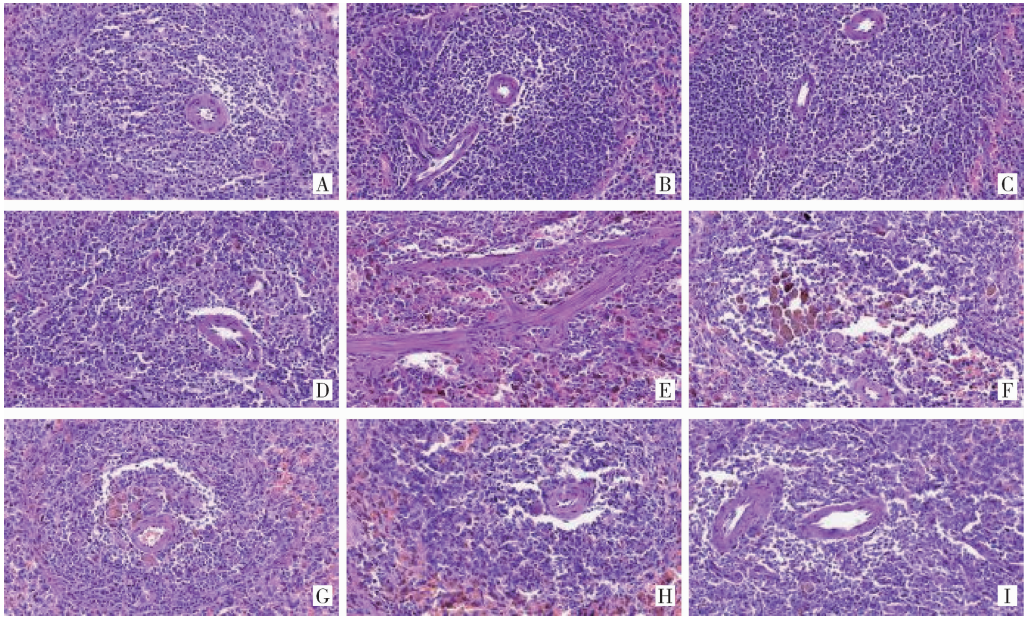


图 1 各组大鼠脾脏病理 HE 染色照片 ( $\times 200$ )

A. 3 月龄组; B. 6 月龄组; C. 9 月龄组; D. 12 月龄组; E. 15 月龄组; F. 17 月龄组; G. 淫羊藿组; H. 女贞子组; I. 配伍组

表 3 不同月龄组大鼠脾脏 T - AOC、SOD、MDA 及 NO 的比较( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	T - AOC( $\times 10^{-2}$ U/mg 蛋白)	SOD(U/mg 蛋白)	MDA( $\times 10^{-2}$ nmol/mg 蛋白)	NO( $\times 10^{-2}$ $\mu\text{mol/g}$ 蛋白)
3 月龄组	84.87 $\pm$ 1.27	5.59 $\pm$ 0.23	22.29 $\pm$ 1.28	11.74 $\pm$ 4.29
6 月龄组	97.39 $\pm$ 1.54 *	8.20 $\pm$ 0.36 *	15.03 $\pm$ 1.54 *	16.39 $\pm$ 3.60 *
9 月龄组	86.02 $\pm$ 1.95 $\Delta$	5.28 $\pm$ 0.53 $\Delta$	22.13 $\pm$ 0.57 $\Delta$	12.37 $\pm$ 4.56 $\Delta$
12 月龄组	56.58 $\pm$ 1.10 * $\Delta$ #	4.33 $\pm$ 0.31 * $\Delta$ #	46.98 $\pm$ 1.48 * $\Delta$ #	9.97 $\pm$ 4.77 * $\Delta$ #
15 月龄组	42.11 $\pm$ 0.72 * $\Delta$ # $\circ$	3.57 $\pm$ 0.26 * $\Delta$ # $\circ$	52.43 $\pm$ 1.00 * $\Delta$ # $\circ$	7.93 $\pm$ 3.13 * $\Delta$ # $\circ$
17 月龄组	28.78 $\pm$ 0.84 * $\Delta$ # $\circ$ $\blacktriangle$	1.49 $\pm$ 0.19 * $\Delta$ # $\circ$ $\blacktriangle$	66.92 $\pm$ 2.34 * $\Delta$ # $\circ$ $\blacktriangle$	6.52 $\pm$ 4.10 * $\Delta$ # $\circ$ $\blacktriangle$

与 3 月龄组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与 6 月龄组比较,  $\Delta$   $P < 0.01$ ; 与 9 月龄组比较, #  $P < 0.01$ ; 与 12 月龄组比较,  $\circ$   $P < 0.01$ ; 与 15 月龄组比较,  $\blacktriangle$   $P < 0.01$

表 4 淫羊藿女贞子对衰老大鼠脾脏 T - AOC、SOD、MDA 及 NO 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	T - AOC( $\times 10^{-2}$ U/mg 蛋白)	SOD(U/mg 蛋白)	MDA( $\times 10^{-2}$ nmol/mg 蛋白)	NO( $\times 10^{-2}$ $\mu\text{mol/g}$ 蛋白)
17 月龄组	28.78 $\pm$ 0.84	1.49 $\pm$ 0.19	66.92 $\pm$ 2.34	6.52 $\pm$ 0.41
淫羊藿组	29.10 $\pm$ 0.85	1.87 $\pm$ 0.29 * #	67.50 $\pm$ 1.35	6.48 $\pm$ 0.32
女贞子组	29.76 $\pm$ 2.96	1.91 $\pm$ 0.27 *	65.80 $\pm$ 2.87	6.53 $\pm$ 0.25
配伍组	28.64 $\pm$ 0.78	2.13 $\pm$ 0.18 *	67.45 $\pm$ 1.41	6.52 $\pm$ 2.37

与 17 月龄组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与配伍组比较, #  $P < 0.05$

3. 大鼠胸腺指数及病理的增龄性改变及淫羊藿和女贞子的影响:与 3 月龄组比较,其余各月龄组胸腺指数均显著降低( $P < 0.01$ ),除 15 月龄组外各组胸腺重量显著降低( $P < 0.05$ );12、15、17 月龄组胸腺病理参数,包括皮质、髓质与面积比值,与 3、6、9 月龄组比较,差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ );17 月龄

组胸腺病理参数与 12 月龄组比较,差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ),与 17 月龄组衰老大鼠比较,淫羊藿和配伍组能显著升高胸腺指数( $P < 0.01$ ),但仅配伍组对胸腺的病理参数有显著改善作用( $P$  均  $< 0.05$ ,表 5,表 6,图 2)。

表 5 不同月龄组大鼠胸腺指数及病理参数的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	胸腺重量(g)	胸腺指数(%)	皮质/总面积(%)	髓质/总面积(%)
3 月龄组	8.91 ± 1.92	2.02 ± 0.38	77.02 ± 5.02	22.98 ± 5.02
6 月龄组	6.37 ± 1.76 **	1.08 ± 0.25 **	77.30 ± 2.48	22.70 ± 2.48
9 月龄组	6.81 ± 1.40 **	1.03 ± 0.21 **	69.57 ± 7.16	30.43 ± 7.16
12 月龄组	7.08 ± 0.70 **	0.90 ± 0.09 **	55.21 ± 6.81 * * △ △ #	44.79 ± 6.81 * * △ △ #
15 月龄组	7.84 ± 0.58 △	0.99 ± 0.12 **	52.00 ± 10.95 * * △ △ #	48.00 ± 10.95 * * △ △ #
17 月龄组	7.53 ± 1.34 *	0.94 ± 0.15 **	42.93 ± 12.82 * * △ △ # ○	57.07 ± 12.82 * * △ △ # ○

与 3 月龄组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与 6 月龄组比较,△ $P < 0.05$ ,△△ $P < 0.01$ ;与 9 月龄组比较,# $P < 0.01$ ;与 12 月龄组比较,○ $P < 0.05$ ;胸腺重量及指数: $n = 8$ ;胸腺病理参数(皮质/总面积、髓质/总面积): $n = 7$

表 6 淫羊藿女贞子对衰老大鼠胸腺指数及病理参数的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	胸腺重量(g)	胸腺指数(%)	皮质/总面积(%)	髓质/总面积(%)
17 月龄组	7.53 ± 1.14	0.94 ± 0.15	42.93 ± 12.82	57.07 ± 12.82
淫羊藿组	9.12 ± 1.25	1.32 ± 0.24 **	52.90 ± 10.76	47.10 ± 10.76
女贞子组	8.47 ± 2.49	1.14 ± 0.32	47.41 ± 8.13	52.59 ± 8.13
配伍组	9.49 ± 2.38	1.31 ± 0.31 **	56.19 ± 7.68 *	43.81 ± 7.68 *

与 17 月龄组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。胸腺重及胸腺脏指数: $n = 8$ ;胸腺病理参数(皮质/总面积、髓质/总面积): $n = 7$

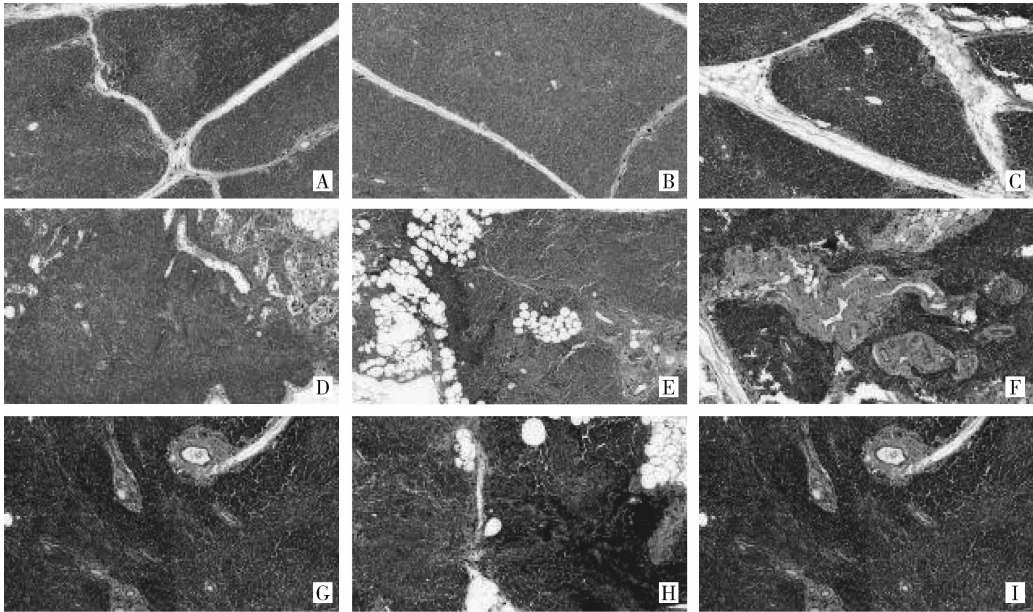


图 2 各组大鼠胸腺病理 HE 染色照片(×200)

A. 3 月龄组;B. 6 月龄组;C. 9 月龄组;D. 12 月龄组;E. 15 月龄组;F. 17 月龄组;G. 淫羊藿组;H. 女贞子组;I. 配伍组

4. 基于神经网络模型评价淫羊藿女贞子对衰老大鼠脾脏和胸腺的综合作用:对 6 个不同月龄组的

12 项检测指标应用多层感知(multi-layer perceptron,MLP)神经网络分析,其中训练样本 39,测试样

本 9 个,得到的模型训练样本相对错误预测 5%,测试样本相对错误预测 5.7%。利用此模型对给药各组样本的 12 项数据进行年龄预测,得到配伍组预测年龄为  $14.25 \pm 0.54$  个月,与 17 月龄组的预测值  $16.39 \pm 0.21$  个月比较有显著降低 ( $P < 0.01$ );与淫羊藿组、女贞子单用组比较,差异无统计学意义。根据输入指标对网络的影响程度,可知胸腺指数、脾脏 SOD、脾小体直径、脾脏指数、脾脏 T-AOC 是本神经网络模型中更为重要的影响因素(表 9,图 3)。

表 9 基于神经网络模型对给药各组的年龄预测( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	预测年龄(月)
17 月龄组	$16.39 \pm 0.60$
淫羊藿组	$14.36 \pm 1.09^{**}$
女贞子组	$15.4119 \pm 0.90^{*}$
配伍组	$14.25 \pm 1.54^{**}$

与 17 月龄组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

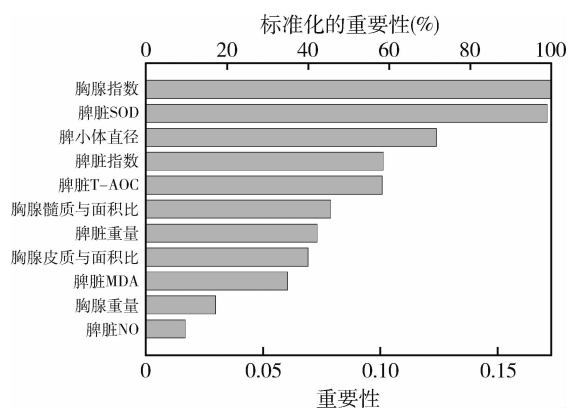


图 3 MLP 输入变量重要性分析

## 讨 论

祖国医学则认为五脏皆虚是衰老之本,认为脏腑虚衰是导致人体衰老、死亡的原因,与现代医学衰老过程中人体器官组织的增龄性退行性损变相符<sup>[10]</sup>。在中医学对于衰老的认识的诸多学说中,肾虚衰老学说一直占主导地位。中医认为肾为先天之本,主藏精;肾精通过肾阳蒸化肾阴产生肾气,而肾气则直接关系到人体的生长、发育、生殖和衰老<sup>[11]</sup>。故肾中精气不足,肾虚渐亏是衰老的核心及根本原因,且始终贯穿于整个衰老过程<sup>[12]</sup>。基于上述肾虚与衰老的联系,中医药抗衰老的治疗历来强调补肾方药的应用。淫羊藿、女贞子作为常用的延缓衰老的补肾中药,淫羊藿具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效,研究表明其具有延缓衰老的作用,与抗氧化、降脂、调节免疫、改

善学习记忆能力,提高心血管功能及生殖功能等有关<sup>[5,13]</sup>。女贞子具有滋补肝肾、明目乌发的功效,研究表明其具有的延缓衰老的作用,与抗氧化、护肝、抗炎、降脂、调节免疫、抗骨质疏松等药理作用有关<sup>[14,15]</sup>。淫羊藿女贞子配伍可平补肾中阴阳,是国家级名老中医李世增教授常用于治疗衰老相关疾病的基本药对组合。李世增教授临床上遵张景岳“善补阳者,必于阴中求阳,则阳得阴助而生化无穷;善补阴者,必于阳中求阴,则阴得阳升而泉源不竭”的配伍指导,在补肾药中筛选淫羊藿、女贞子二药配伍“平补阴阳、补肾益精”,随症加减组方,用于肾阴虚、肾阳虚及肾精不足、阴阳两虚等证取得较好的疗效。

免疫衰老是免疫系统全方位多系统的并由基因严格控制的循序渐进的自然过程,表现为随着年龄的增加免疫系统进行性损伤,对感染的控制能力降低,且免疫衰老的始因在于增龄导致胸腺的萎缩<sup>[16]</sup>。本研究证实,3 月龄青年大鼠胸腺指数及胸腺皮质占比最高,之后随着老年大鼠月龄的增加,胸腺重量及指数均显著降低,胸腺萎缩,胸腺皮质占比显著降低,胸腺皮质厚度逐渐变薄,说明不成熟前体 T 细胞随年龄增长逐渐减少,与报道结果相符<sup>[2]</sup>。笔者同时观察到自然衰老大鼠脾组织也出现退行性的病理改变,脾脏中脾小体的直径随年龄增加而降低,提示脾脏免疫功能降低;同时脾组织中 SOD、T-AOC 及 NO 水平显著降低,且 MDA 水平显著升高,提示脾脏中自由基水平随年龄增大而增加,抗氧化能力降低,脾脏退行性的病理改变与自由基损伤有关,与文献报道一致<sup>[2]</sup>。基于中药淫羊藿、女贞子单用及配伍使用后,均能增加衰老大鼠脾小体直径,升高脾脏 SOD 水平;淫羊藿及配伍组增加胸腺指数,仅配伍组可显著改善胸腺的病理参数,提示二药配伍有对免疫器官胸腺及脾脏的退行性的病理改变具有较好的改善作用。

综上所述,基于神经网络模型综合评价了淫羊藿、女贞子单用及配伍的作用,证实淫羊藿、女贞子单用及配伍对衰老大鼠胸腺及脾脏均有显著改善作用 ( $P < 0.05$ ),但单用及配伍组之间比较,差异无统计学意义。因淫羊藿、女贞子对脾脏 T-AOC 无显著改善作用,提示二药影响脾脏的退行性改变的作用可能与抗氧化作用关系并不密切,可能通过其他的途径,尚有待于进一步研究。

## 参考文献

- 何耀,杨姗姗.健康老龄化与老年流行病学研究进展[J].中华流行病学杂志,2018,39(3):253-257



- 2 朱华,于品,徐艳峰,等.自然衰老过程中 SD 大鼠免疫系统结构功能的变化[J].中国实验动物学报,2018,26(1):95-100
- 3 高莹莹,唐秀凤,李晓曦,等.淫羊藿女贞子配伍提高哮喘大鼠对地塞米松作用敏感度研究[J].医学研究杂志,2019,48(1):30-34
- 4 李晓曦,陈宇恒,唐秀凤,等.淫羊藿、女贞子单用及配伍对绝经后骨质疏松症大鼠骨量及内分泌器官的影响[J].中国医药导报,2018,15(35):12-16
- 5 王焕珍,柴艺汇,陈云志,等.淫羊藿化学成分与药理作用研究进展[J].亚太传统医学,2016,12(7):63-65
- 6 毕莹,赵源,李知晓,等.中药女贞子的研究进展[J].吉林中医药,2019,39(8):1117-1120
- 7 高莹莹,唐秀凤,李晓曦,等.平补阴阳中药对自然衰老大鼠肝肾功能及血脂、血清骨转化因子影响[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(10):198-202
- 8 张蕊,何亚男,尹君,等.老龄大鼠脾脏髓外造血的病理学研究[J].中国实验血液学杂志,2018,26(1):268-272
- 9 姜蓉,张梦思,贾道勇,等.当归多糖拮抗致衰剂对大鼠胸腺结构与功能的保护作用[J].解剖学报,2016,47(2):254-260
- 10 沈玮,詹向红.中医衰老病机与五脏相关性的理论探讨[J].辽宁中医杂志,2016,43(8):1630-1633
- 11 鲍晓敏,史晓,沈雁.从“肾”论治老年衰弱综合征[J].陕西中医杂志,2019,40(8):1098-1100
- 12 丁原全,于天晓,赵楠.肾虚与衰老关系探要[J].实用中医内科杂志,2008,22(2):33-37
- 13 李建平,张跃文,王静,等.淫羊藿不同提取物对 D-半乳糖致衰老小鼠行为学及脏器指数的影响[J].中药药理与临床,2010,26(2):46-49
- 14 魏祥燕,王国娟,王桦影,等.女贞子药理作用研究进展[J].上海中医药杂志,2017,51(8):106-108
- 15 边晓丽,王晓理,李金娜,等.6种抗衰老中药清除氧自由基和抗脂质过氧化作用的测定[J].西北药学杂志,2001,16(2):68-69
- 16 肖凌,王华.中医衰老学说与免疫衰老的契合[J].光明中医,2013,28(2):240-241

(收稿日期:2019-09-20)

(修回日期:2019-10-08)

# 二氢杨梅素对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用研究

王署美 王 琳 王 硕 李万忠 李海健 吕艳娜 赵春贞

**摘 要** 目的 研究二氢杨梅素(dihydromyricetin,DHM)对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 PC12 细胞凋亡的影响及机制。方法 建立 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 PC12 细胞氧化损伤模型,以不同浓度二氢杨梅素(10、20、40 μmol/L)处理细胞,采用噻唑蓝(MTT)比色法检测二氢杨梅素对 PC12 细胞活性的影响,ELISA 法检测细胞上清液乳酸脱氢酶的活性,Hoechst 33342 染色检测细胞凋亡,免疫印迹法检测 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和天冬氨酸蛋白水解酶(caspase-3)的表达情况。结果 MTT 和 LDH 结果显示 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100 μmol/L 显著损伤 PC12 细胞,二氢杨梅素(10、20、40 μmol/L)可保护 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞损伤。Hoechst 染色结果显示,与模型组比较,二氢杨梅素(10、20、40 μmol/L)显著抑制细胞的凋亡率( $P < 0.01$ )。Western blot 法结果显示,与模型组比较,二氢杨梅素显著抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 PC12 细胞 Bax 和 caspase-3 蛋白表达上调,Bcl-2 蛋白表达下调。结论 二氢杨梅素通过抑制细胞凋亡保护 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 PC12 细胞氧化损伤。

**关键词** 二氢杨梅素 PC12 细胞 凋亡

中图分类号 R966

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.04.015

**Protective Effect of Dihydromyricetin on PC12 Cell Injury Induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.** Wang Shumei, Wang Lin, Wang Shuo, et al. Laboratory of Applied Pharmacology, Weifang Medical University, Shandong 261053, China

**Abstract Objective** To investigate the effect and mechanism of dihydromyricetin (DHM) on cell apoptosis of PC12 cells induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Methods** PC12 cells are treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to induce cell injury, administrated with different concentrations of DHM (10, 20, 40 μmol/L). PC12 cell viability was evaluated by MTT detection assay, and the activity of lactate dehydrogenase (LDH) in cell superna-

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(31600386);山东省中医药科技发展计划项目(2017-207);山东省高等学校科技计划项目(J17KA256, J18KA280)

作者单位:261053 潍坊医学院应用药理学实验室(王署美、王琳、王硕、李海健、赵春贞),药学院药剂学教研室(李万忠),生药学与生化药物学教研室(吕艳娜)

通讯作者:赵春贞,副教授,电子信箱:chunzh414@163.com;吕艳娜,副教授,电子信箱:lynlyna@163.com