

· 综 述 ·

D-半乳糖致衰老动物模型的建立及评价

吴克芬, 胡 予

(复旦大学附属中山医院老年病科, 上海 200032)

【摘 要】 建立衰老动物模型是研究人类衰老过程的有效方法。结合动物的生理特性及自然属性, 建立不同的动物模型, 已成为衰老及抗衰老研究的焦点。D-半乳糖衰老动物模型与其他几种衰老动物模型(如自然衰老模型、臭氧损伤衰老模型、去胸腺衰老模型、SAMP系小鼠衰老模型等)相比, 简便易行, 价格低廉, 结果稳定, 因而得到广泛应用。结合该模型近年来的运用和发展, 本文对该模型构建原理、剂量、具体方法和评估手段作一综述, 并对行为学水平、生化水平、形态学水平、分子生物学水平检测指标进行总结。总之, 采用D-半乳糖 120~125mg/(kg·d)连续皮下注射6~8周是较为可靠、稳定的建立衰老动物模型的方法。

【关键词】 D-半乳糖; 衰老; 模型; 动物

【中图分类号】 R332

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2012.00018

Establishment and evaluation of D-galactose induced aging animal model

WU Kefen, HU Yu

(Department of Geriatrics, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Establishment of aging animal model is an effective way to study the aging process of human being. It has been a focus to establish different aging models for research of aging and anti-aging agents according to the physiological characteristics and natural attributes of various animals. Compared with other aging models, including naturally aging model, ozone induced aging model, thymus removed aging model, and aging SAMP model, D-galactosis induced aging model has been widely used because of its easy feasibility, low cost, and stable performance. In this paper, regarding its application and development, we reviewed the D-galactosis induced aging models from the following aspects: the mechanism and the dosage of the D-galactose to induce aging, the specific protocols, and the evaluation for successful establishment. In addition, we summarized some indexes to assess aging, such as behavioral, biochemical, morphological and molecular biological indices. In summary, subcutaneous injection of 120~125mg/(kg·d) of D-galactose once per day for 6 to 8 weeks is a reliable and stable way to establish the aging model.

【Key words】 D-galactose; aging; models, animal

衰老又称老化, 是生物体在生命后期阶段所出现的进行性、全身性、十分复杂的退化过程, 它是指随着年龄增大, 自身机能减退, 结构功能逐步退化性变, 趋向死亡且不可逆转的现象。2007年联合国经济和社会事务部发表的《2007年世界经济和社会调查报告》显示, 全球大多数国家正迅速进入老龄化社会, 2005~2050年, 世界人口增加的一半是>60岁的老年人, >80岁的人口将从9000万增加到4亿^[1]。因此, 与衰老相关的各种老年疾病及如何延缓衰老成为老龄化社会关注的热点。在科学研究中, 理论上以自然衰老动物为模型进行研究最理想, 但存在饲养周期长、价格昂贵, 并且动物来源有可能非同一批动物, 进而导致实验结果不可靠的缺

点。因此建立衰老动物模型将越来越普及、越来越重要。

1 常见的衰老动物模型

1.1 自然衰老模型

赵彩红等^[2]对自然衰老小鼠进行评价, 结果显示自然衰老小鼠的抗疲劳能力、常压耐缺氧能力、T淋巴细胞转化率和溶血素的水平显著降低, Y迷宫智力测验及跳台智力测验的错误反应率均显著升高, 表明小鼠自然衰老后, 抗应激能力低下, 免疫功能降低, 学习记忆功能减退。理论上采用自然衰老动物进行衰老研究是最为科学和理想的。但这一模型存在一些不足: (1) 老年动物难以得到, 其来源不

统一、饲养周期长、价格昂贵等因素导致其在实验中难以发挥作用; (2) 老年动物的健康状况差, 死亡率高, 在药物吸收、代谢、分布上的变异性大, 有时会产生统计意义不确定的结果, 故多采用人工衰老动物模型进行研究。

1.2 人工衰老动物模型

根据研究目的不同, 可选用不同的动物采取 D-半乳糖 (D-galactose, D-gal) 注射、 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, β -AP) 注射、快速老化小鼠 (senescence accelerated mouse, SAMP) 辐照 γ 射线、臭氧 (O_3) 损伤、 $AlCl_3$ 致急性衰老模型、去除胸腺等方法建立衰老模型。

1.2.1 D-gal 注射法 机制及方法详见后述。

1.2.2 SAMP 系小鼠快速衰老模型 SAM 小鼠在日本东京大学首次培育成功, 目前共有 12 个亚系^[3], 不同亚系小鼠具有不同的病理表现型。如在增龄过程中, 快速衰老小鼠 P 系 1 代 (SAMP1) 主要特征为免疫功能低下, SAMP2 以肺部病变为主, SAMP3 为变形骨关节病, SAMP6 为伴有主动脉形态结构异常及中膜轻度钙化, SAMP8 为衰老及学习记忆能力减退, SAMP9 为白内障, SAMP10 为伴有脑萎缩的学习记忆及情感障碍。这些与衰老相关的病理改变与许多人类老年性疾病的病理改变相似。并且小鼠遗传信息极为丰富, 与人类遗传学特征亦有相似性。因此, 研究者可根据研究目的的不同选择相应的 SAM 小鼠作为衰老动物模型。但 SAM 模型也存在缺点, 如价格昂贵、存在基因缺陷、来源不足等。

1.2.3 辐照 γ 射线 γ 射线能使大鼠机体内产生多种自由基, 启动脂质过氧化物反应链, 增加细胞的通透性, 攻击生物膜。同时辐射也能使氧化酶和非氧化酶活性系统的防御机制减弱, 白细胞总数和血红蛋白明显降低。大鼠的辐照吸收剂量为 3 Gy 较为理想, 辐照面积为 25 cm \times 25 cm, 辐照源距动物高度为 80 cm, 每次辐照为 4 min 53 s, 连续辐照 5 d 能快速、有效地建立衰老动物模型。

1.2.4 β -AP β -AP 是与老年痴呆密切相关且存在于老年痴呆患者大脑内的一种特有蛋白, 双侧海马内单次注射 β -AP 引起大鼠学习记忆功能下降。 β -AP 具有沉积作用和神经毒性, 较高浓度的 β -AP 能引起神经退化和死亡; β -AP 的神经毒性作用还可增强或加大各种损害性刺激的细胞损伤效应。在 D-半乳糖致衰老的基础上, 海马内注射 β -AP 有望成为建立衰老动物模型的有效方法^[4]。

1.2.5 $AlCl_3$ 致急性衰老模型 铝是大脑细胞的伤

害因子, 是阿尔茨海默病的危险因素之一。铝进入大脑及大脑细胞产生至少以下 3 种病理作用: (1) 神经原纤维形成异常的 T 型结构, 使其相互缠结; (2) 大脑细胞产生淀粉样前体蛋白而形成老年斑; (3) 通过组织相容性系统, 产生过量的氧自由基造成对神经系统的损害。目前采用 $AlCl_3$ 的大白鼠急性衰老模型是公认的阿尔茨海默病病理模型。

1.2.6 去胸腺致衰老 去除胸腺的动物模型类似于人衰老后各器官的退化状态, 因此可作为一种衰老模型。

1.2.7 臭氧损伤法 臭氧作为一种强氧化剂, 能与有机分子作用产生自由基, 使细胞膜上饱和脂肪酸发生脂质过氧化物链反应, 其产物作用于蛋白质分子和某些酶, 使其生物活性受到影响。臭氧致衰老的动物模型在形态学、行为学以及单胺氧化酶活性、脂质过氧化物、超微结构等方面的指标已被证实与自然衰老动物相似。

2 D-gal 衰老动物模型的机制

2.1 D-gal 的来源和体内分布

D-gal 是一种小分子单糖, 分子中含有 6 个碳原子, 和 D-葡萄糖互为同分异构体。食物中 D-gal 主要来源于哺乳动物的乳汁, 一分子乳糖水解生成一分子葡萄糖和一分子 D-gal。D-gal 是一种生理营养成分, 在正常机体代谢中可转变为葡萄糖, 参与葡萄糖代谢, 但过量供给会导致代谢紊乱。D-gal 在体内主要的代谢途径为: (1) 在正常情况下, 半乳糖通过半乳糖激酶和 1-磷酸半乳糖尿苷转移酶的作用, 生成 1-磷酸葡萄糖, 进入三羧酸循环; (2) 当体内积聚了过量的 D-gal 时, 半乳糖会在醛糖还原酶的作用下生成半乳糖醇。有研究表明, 半乳糖醇大量堆积会导致毒性反应, 如体内 NADPH 耗竭, 影响巯基链功能, 导致晶体蛋白交联失去透明性等; (3) 半乳糖脱氢酶在激活后, 可转化成半乳糖氧化酶 (galactose, GOA), GOA 可使半乳糖醇氧化, 生成醛和 H_2O_2 。这一途径总共可以产生三种活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS)。

2.2 D-gal 的主要代谢途径

半乳糖是动物体内的正常代谢产物。哺乳动物从乳糖中获得半乳糖, 乳糖在体内水解生成葡萄糖和半乳糖, 而半乳糖在肝脏中迅速被酶解成葡萄糖。半乳糖代谢异常会引起动物生理功能显著变化。半乳糖血症是一种染色体隐性遗传的糖类代谢遗传疾病。体内半乳糖及其代谢物浓度异常升高所致代谢障碍使患者的肝脏、肾脏、脑组织和晶状体成为

主要受累器官,可引发白内障、肝肿大、肝硬化等并发症。鉴于半乳糖代谢的特点,研究者通过大剂量 D-gal 的给予而造成动物糖代谢紊乱,可成功建立具有特殊研究目的的动物模型。

2.3 D-gal 致动物衰老模型机制

D-gal 模型最早在国外应用于白内障研究,1985年我国学者徐赓本等首次在延缓衰老药物疗效实验中使用 D-gal 模型作为衰老模型文献。D-gal 在各种衰老动物模型中应用广泛,能够诱导各组织器官的疾病衰老,并且与临床一些疾病也密切相关,但是具体机制还不明了。国内外许多学者对其进行了大量的研究,先后提出了糖代谢紊乱学说、自由基氧化损伤学说、半乳糖醇中毒学说、羰基毒化衰老学说等观点。

2.3.1 糖代谢学说 早期的研究认为,在一定时间内,连续给动物注射大剂量的 D-gal,使机体细胞内半乳糖浓度增高,D-gal 代谢主要在肝组织,在醛糖还原酶的催化下,还原成半乳糖醇,不能被细胞进一步代谢而堆积在细胞内,影响正常渗透压,导致细胞肿胀、功能障碍、代谢紊乱,破坏并消耗机体抗氧化防御系统,最终致使衰老的发生,即衰老的代谢学说。但这种途径多伴有白内障、髓鞘变性、神经传导速度减慢等糖尿病并发症、神经炎性病变等,而多数 D-gal 衰老模型的研究并未报道这些改变。因此,该机制有待进一步证实。

2.3.2 自由基学说 D-gal 衰老模型的氧化损伤机理最早由李文彬等提出^[5],他们利用 D-gal 皮下注射制成大鼠衰老模型,发现实验动物脑、心、肝中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性下降,脂褐素、MDA 含量和单胺氧化酶-B(MAO-B)活性升高,应用电子自旋共振检测出海马中 O_2^- 水平明显增高,因而首次提出了自由基致衰老学说。

自由基的氧化积累会损伤细胞内的 DNA、蛋白质、细胞膜脂质等大分子,致使机体逐渐衰老。个体的代谢率越高,自由基的氧化积累越快,由此造成的细胞损伤也越大,其寿命也就越短。在 D-半乳糖诱导衰老模型中,过量的 D-半乳糖的给予导致了机体代谢率的提高,由此产生了由于自由基的增加而引起的一系列与氧化应激相关的病理生理变化^[6]。实验研究发现:D-半乳糖模型大鼠脑、胃、肝、大肠、小肠的线粒体和细胞浆中 SOD、脂质过氧化物、丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)、过氧化硝基($ONOO^-$)有显著变化。同时, D-半乳糖处理组大鼠体内多种抗氧化酶活性下降, Na^+/K^+ -ATP 酶(钠泵)、 Ca^{2+} 含量、

一氧化氮(NO)、血管紧张素 II 和胰岛素活性与正常小鼠直接存在显著性差异, Zn^{2+}/Cu^{2+} 比值也下降,主要脏器的脂褐素、脂质过氧化物增多,皮肤羟脯氨酸含量降低。

另外,李文彬等^[5]在系统研究后提出了 D-gal 活性氧应激效应态是拟衰老和脑老化的启动因子学说。他认为, D-gal 合成酶的作用,产生了 O_2^- 和 H_2O_2 等活性氧,导致 SOD 活性下降,MDA 和脂褐质(LIP)水平升高,其中活性氧是 D-gal 拟老化作用的启动因子,而基因表达和调控过程受累是重要环节。D-gal 进入体内引起的氧自由基代谢失衡是诱发衰老的主要原因这一机制现得到普遍公认。

2.3.3 羰基毒化衰老学说 很多学说认为自由基学说并不能完全解释 D-gal 衰老模型的许多变化,如免疫功能低下等。Stadtman^[7]在进行动物和人体内蛋白质的老化研究时发现,老龄动物和人体内蛋白质被氧化生成各种产物(其中半胱氨酸和甲硫氨酸对氧化敏感),出现蛋白羰基积聚,可导致各种疾病;羰-氨反应是诸多生物副反应的一个核心过程,有学者据此提出羰基毒化衰老学说。该学说认为 D-gal 作为葡萄糖的异构体,异常情况下可通过酮-烯醇互变转变为含羰基的醛酮形式,然后通过羰-氨反应与蛋白质交联,其产物进一步脱氨、水解生成不饱和醛酮(如 MDA 等)。蛋白质的羰基化困难主要由于自由基或其他氧化剂直接氧化多肽链上的脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸等残基,使羰基介入蛋白质中;此外, D-半乳糖(还原糖)本身亦可能与蛋白质的赖氨酸残基等反应,经薛夫碱、分子重排形成具备羰基作用的衍生物。这种氧化困难导致了蛋白质性质和功能的改变。

2.3.4 信号转导机制 在中枢神经系统中,神经生长因子(nerve growth factor, NGF)通过与转羟乙醛酶(Trk)受体结合,激活神经元存活信号转导通路,启动磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)信号转导途径,通过 PI3K-Akt-CREB-pCREB 通路,使神经元存活并维持正常功能。当各种原因引起神经存活因子减少或损伤性因素对信号传导通路的刺激减弱,使多种维持神经元存活的重要蛋白不能随之激活时,则引起神经元功能减退和神经元退行性变。研究发现, D-gal 模型小鼠海马神经元 PI3K 信号转导途径中的多种重要蛋白质均处于低水平表达^[8]。D-gal 还可通过半胱天冬酶的介导促进神经元程序性坏死及抑制神经干细胞迁移核心的神经细胞生成,增加神经细胞的氧化损伤。

2.3.5 相关基因表达 研究证明, D-gal 使原癌基因

H-ras 和 *c-fos* 表达下降, RNA 含量减少。此外, 在研究 D-gal 诱导大鼠白内障形成过程中发现晶状体上皮细胞的 *c-myc* 原癌基因高表达增加。

3 D-gal 致衰老动物模型的建立

3.1 D-gal 衰老模型动物来源

选用 D-gal 来建立衰老动物模型时发现, 雄性大鼠相对于雌性大鼠更为敏感, 可以首选雄性 SD 大鼠作为动物来源。但亦可选用 Wistar 大鼠、昆明小鼠、ICR 小鼠等。

3.2 D-gal 注射方法

D-gal 诱导衰老动物模型可采用腹腔注射、皮下注射的方式。但考虑 D-gal 对肝脏存在一定的毒副作用, 较少采用腹腔注射。同时需要 D-gal 缓慢吸收, 故多采用皮下注射方式。皮下注射部位在文献中没有具体规定, 一般为安全及注射方便起见, 可选取颈背部皮下、侧腹壁或后肢外侧皮下。李春海等^[9]通过实验研究发现, 大小鼠口服 D-gal 700mg/kg 连续 6 周, 可获得较好的拟衰老效应, 与皮下注射 70mg/(kg·d) 连续 6 周所产生的衰老效应基本相似。但口服 D-gal 致动物衰老效果缺乏进一步实验研究的支持。

3.3 D-gal 注射剂量

D-gal 致衰老动物模型所需剂量及时间尚无统一规定, 剂量范围从 50~1250mg/(kg·d) 不等。但根据文献报道, 在制备 D-gal 衰老大鼠或小鼠模型时, 给 D-gal 50~500mg/(kg·d), 连续 6~8 周比较合适^[10]。徐智等^[11]通过不同剂量 D-gal 造模结果与正常衰老大鼠比较, 发现 D-gal 125mg/(kg·d) 皮下注射 40d, 可得到相当于 24 个月龄大鼠的模型。崔美芝等^[12]采用 D-gal 500mg/(kg·d) 腹腔注射 56d 与 20 月龄自然大鼠比较其血清血糖、胆固醇等生化指标及血清 SOD 值、MDA 值等无显著差异。

3.4 D-gal 造模注意事项

制作 D-gal 致衰老动物模型时, 给药时间应准时, 注射时注意无菌操作, 避免模型制作后期大鼠因感染而死亡或致造模失败。另外 D-gal 溶液需妥善密封保存, 避免变质。

3.5 D-gal 造模的优缺点

简便易行(成模时间短)、价格低廉、结果稳定(重复性好)是 D-gal 致衰老动物模型的优点。这种方法不仅可用于建立衰老大鼠动物模型, 还可用于建立衰老小鼠动物模型, 但 D-gal 皮下注射所需时间较之臭氧等方法造模的时间长。

D-gal 模型鼠是由化学损伤造成的, 难以真实反应衰老的生理生化改变, 因此, D-gal 模型鼠不宜应用于免疫、行为等方面的衰老研究。相对而言更适合于氧化损伤方面的研究^[13]。

4 D-gal 致衰老动物模型的评价

4.1 外观特征

观察指标包括实验鼠体重下降, 毛色枯黄, 行动迟缓, 精神萎靡等。

4.2 血液、组织生化指标检测

常用的有(1)血清、红细胞、脑、肝组织 MDA 或 MAO-B、含量血清脂质过氧化物(Lipid oxygen, LPO)及 SOD 活力;(2)血清溶血素检测;(3)脑、心、肝中脂褐素含量;(4)血糖、血清胆固醇含量;(5)胸腺指数、脾脏指数、体重增长率。徐智等^[11]将 D-gal 衰老大鼠的酶学指标、生理生化指标和免疫指标分别与 3 月龄鼠和 24 月龄鼠比较, 化学比色法测定血清 SOD 活性, 荧光分光光度法测定脑、心、肝中脂褐素含量, 结果显示 D-gal 衰老大鼠脑中 MAO-B 活性、血清 LPO 含量较 3 月龄大鼠明显增高, 而 SOD 活力较 3 月龄大鼠明显降低。上述指标与 24 月龄大鼠无显著差异。证明了 D-gal 衰老动物明显的可靠性。

较少使用的还有内耳组织谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶检测, 血清白介素 2(interleukin-2, IL-2)含量测定。研究表明内耳组织 GSH-Px、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶在 D-gal 衰老模型鼠中活性显著下降^[14]; IL-2 含量亦较正常动物明显降低^[15]。

4.3 行为学检测

常用的有迷宫试验、游泳水迷宫试验、兴奋性试验、跳台被动回避试验等。这种行为学检测多用于研究衰老大鼠或小鼠学习、记忆、辨别能力的改变方面。如迷宫试验即在一个 Y 型迷宫内(分安全区和电击区), 给小鼠电击刺激, 迫使它逃避并获得迅速找到安全区的记忆力, 观察小鼠空间分辨的学习和记忆能力。凡小鼠受电击后能直接逃至安全区为正确反应, 否则为错误反应。每只小鼠训练 10 次, 分别在 24h 后、48h 后测其记忆力情况。D-gal 小鼠较正常小鼠在第 1, 2, 3d 训练时正确反应明显减少, 学习记忆辨别能力明显下降。对 D-gal 大鼠的研究常应用上述研究方法, 检测衰老大鼠探究行为及空间学习记忆能力的下降情况。

4.4 形态学研究

研究较多的是神经病理学变化, 如大脑皮层的

形态学变化等。采用 TUNEL 法检测可发现 D-gal 大鼠齿状脑回、海马 CA1 区、CA3 区 TUNEL 阳性细胞显著增加,观察到细胞萎缩和大量核固缩,即大量神经元变性^[16]。原淑娟等^[17]应用透射电镜结合图像分析对大鼠海马 CA3 区突触形态结构进行观察,发现 D-gal 模型大鼠海马 CA3 区突触后致密物厚度变薄,突触间宽度增大,突触活性区长度缩短。这些改变是导致空间学习记忆行为障碍的基础。

另外, D-gal 模型小鼠的晶状体、视网膜色素上皮、脉络膜的高级糖基化终末产物特殊荧光减弱,视网膜色素上皮细胞增大,基底侧面连接减少, Bruch 膜增厚,外胶质层突出,绒毛毛细血管基底膜裂开、增厚,绒毛毛细血管内皮穿孔出现损伤。

4.5 分子生物学检测

将从内耳组织中提取的线粒体 DNA 采用巢式 PCR 进行 DNA 检测从而了解衰老情况,结果显示 D-gal 衰老模型组小鼠内耳线粒体 DNA 缺失明显^[14]。徐智等^[11]取大鼠的脑、心肌、肝组织用荧光分光光度法进行脂褐素测定,结果发现模型鼠该指标含量增加。用 PCR-ELISA 法进行端粒酶活性检测,发现模型小鼠该指标活性显著下降^[18]。

综上所述,采用 D-gal 120~125 mg/(kg·d) 连续皮下注射 6~8 周建立衰老动物模型是较为可靠、稳定的。但毕竟衰老模型动物与自然衰老动物的各种指标间有一定的差异,且该模型的评价指标较多,没有一项单一指标可全面、正确反映衰老的形态、生理或免疫等方面的变化,因此应根据所研究的具体内容有针对性地选用其中某些指标进行检测,从而更科学地进行与衰老有关的疾病、机制、药物方面等的研究。

【参考文献】

[1] 刘莹,曹军皓.衰老动物模型研究进展[J].动物医学进展,2007,28(12):96-98.
[2] 赵彩红,王钦富.小鼠自然衰老模型的评价[J].中国行为医学科学,2003,12(5):588-589.
[3] Chen YC, Hosoda K, Tsai CJ, *et al.* Favorable effects of tea on reducing the cognitive deficits and brain morphological changes in senescence-accelerated mice[J]. J Nutr Sci

Vitaminol(Tokyo), 2006, 52(4): 266-273.
[4] 张葳,张昱,赵晴.淀粉样蛋白对 D-半乳糖致衰老大鼠学习记忆及海马超微结构的影响[J].吉林大学学报,2005,31(2):246-248.
[5] 李文彬. D-半乳糖衰老模型的现状与展望.中华医学会首届全国老年基础医学学术会议论文汇编,1994,10:3-12.
[6] 许扬,吴涛,顾佳黎,等. D-半乳糖诱导衰老动物模型研究进展[J].中国老年学杂志,2009,7(29):1710-1713.
[7] Stadtman ER. Protein oxidation and aging[J]. Free Radic Res, 2006, 40(12): 1250-1258.
[8] 王蓉,赵志炜,姬志娟,等. D-半乳糖老化小鼠神经元信号转导通路的改变以及 APP63-73 的作用[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2005,12(1):26-28.
[9] 李春海,刘亚千,陈华.口服 D-半乳糖致动物衰老效应的评价[J].实验动物科学,2008,25(3):5-7.
[10] 朱亚珍,朱虹光. D-半乳糖致衰老动物模型的建立及其检测方法[J].复旦学报(医学版),2007,34(4):617-619.
[11] 徐智,吴国明,钱桂生,等.大鼠衰老模型的初步建立[J].第三军医大学学报,2003,25(4):312-315.
[12] 崔美芝,刘浩,李春艳.衰老动物模型的建立及评价[J].中国比较医学杂志,2006,16(2):118-121.
[13] 刘克明,王春花,李国星,等. D-半乳糖模型鼠与自然衰老鼠的比较研究[J].卫生研究,2007,36(6):685-688.
[14] Kong WJ, Wang Y, Wang Q, *et al.* The relation between D-galactose injection and mitochondrial DNA 4834bp deletion mutation[J]. Exp Gerontol, 2006, 41(6): 628-634.
[15] Deng HB, Cui DP, Jiang JM, *et al.* Inhibiting effects of Achyranthes bidentata polysaccharide and Lycium barbarum polysaccharide on nonenzyme glycation in D-galactose induced mouse aging model[J]. Biomed Environ Sci, 2003, 16(3): 267-275.
[16] Zhang Q, Li XK, Cui X, *et al.* D-galactose injured neurogenesis in the hippocampus of adult mice[J]. Neurol Res, 2005, 27(5): 552-556.
[17] 原淑娟,张志雄,吴定宗,等. D-半乳糖对大鼠空间学习记忆行为与脑海马结构电生理以及突触形态学的影响[J].中国临床康复,2005,9(37):172-175.
[18] 李友元,邓洪波,王蓉,等.衰老小鼠组织端粒酶活性的变化及黄精多糖的干预作用[J].医学临床研究,2005,22(7):894-895.

(编辑:任开环)