

# 6-姜烯酚对D-半乳糖诱导C57BL/6小鼠衰老的保护作用

陈雨露, 李友\*, 陈子琪, 罗婷玉, 叶泽严, 张夏爽, 谢超凡

(桂林医学院公共卫生学院, 广西桂林 541199)

**摘要:** 旨在探究 6-姜烯酚对衰老小鼠氧化应激的影响。采用腹腔注射 D-半乳糖 (D-galactose, D-gal) 建立衰老小鼠模型, 同时用槲皮素, 低、中、高剂量 (按体质量计 6、12、18 mg/kg) 6-姜烯酚给小鼠灌胃。记录小鼠脏器与体质量比值; 苏木精-伊红 (Hematoxylin Eosin, HE) 染色检测组织病理学变化;  $\beta$ -半乳糖苷酶 (Senescence-Associated  $\beta$ -galactosidase, SA- $\beta$ -Gal) 染色法测定组织器官衰老情况; 检测组织中总超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione Peroxidase, GSH-Px) 和丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量。结果显示, 与衰老模型组相比, 中剂量组脏器系数升高最多 ( $P<0.05$ )。病理组织切片显示, 经 6-姜烯酚干预后, 小鼠心肌细胞坏死减少, 肾小体形态趋于正常, 生精小管萎缩情况得到改善, 精子数量增多。SA- $\beta$ -Gal 染色结果显示, 与衰老模型组相比, 中剂量 6-姜烯酚组小鼠各组织器官切片蓝染较轻, 器官衰老程度有明显改善。与衰老模型组相比, 不同浓度的 6-姜烯酚组小鼠心脏、肾脏及睾丸中抗氧化酶活力升高, 过氧化产物水平下降。其中, 中剂量 6-姜烯酚组的 SOD 和 GSH-Px 的活性显著升高 ( $P<0.05$ ), MDA 含量显著降低 ( $P<0.05$ )。上述结果表明, 6-姜烯酚改善衰老小鼠相关脏器的损伤与氧化应激有关。

**关键词:** 6-姜烯酚; D-半乳糖; 氧化应激; 抗氧化; 抗衰老

文章编号: 1673-9078(2024)11-30-37

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.11.1173

## Protective Effect of 6-Shogaol on D-Galactose-Induced Aging of C57BL/6 Mice

CHEN Yulu, LI You\*, CHEN Ziqi, LUO Tingyu, YE Zeyan, ZHANG Xiashuang, XIE Chaofan

(School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

**Abstract:** To investigate the effects of 6-shogaol on oxidative stress in aging mice, a model was established by injecting D-galactose into the abdomen of aging mice. Quercetin and low, medium and high doses of 6-shogaol (6, 12 and 18 mg/kg by body mass, respectively) were administered to mice by gavage. The organ coefficients of the heart, kidneys, and testes was recorded, and hematoxylin-eosin staining was used to detect histopathological changes.  $\beta$ -Galactosidase (SA- $\beta$ -Gal) staining was used to determine the degree of aging of the organs. Superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities and the malondialdehyde (MDA) content of mouse tissues were measured. The organ coefficients were highest in the medium-dose group and significantly higher than those in the aging model group ( $P<0.05$ ). Pathological sections showed that after 6-shogaol intervention, cardiomyocyte necrosis decreased, the number of renal corpuscles tended to

引文格式:

陈雨露,李友,陈子琪,等.6-姜烯酚对D-半乳糖诱导C57BL/6小鼠衰老的保护作用[J].现代食品科技,2024,40(11):30-37.

CHEN Yulu, LI You, CHEN Ziqi, et al. Protective effect of 6-shogaol on d-galactose-induced aging of C57BL/6 mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(11): 30-37.

收稿日期: 2023-09-27

基金项目: 广西科技重大专项 (AA22096026); 广西研究生教育创新计划项目 (GYYK2022002); 桂林市创新平台和人才计划 (20220120-2)

作者简介: 陈雨露 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 环境与健康, E-mail: chenylu\_1@163.com

通讯作者: 李友 (1977-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 环境与健康, E-mail: liyou121300@163.com

normalize, seminiferous tubule atrophy was improved, and the number of sperm increased. Various tissue and organ sections in the medium-dose 6-shogaol group showed lighter SA- $\beta$ -Gal staining, and the degree of organ aging was significantly improved compared with the aging model group. Antioxidant enzyme activity was elevated and peroxidation product levels were decreased in the heart, kidneys, and testes of mice in the different 6-shogaol treatment groups than in the aging model group. The activities of SOD and GSH-Px were significantly higher ( $P < 0.05$ ) and the MDA content was significantly lower ( $P < 0.05$ ) in the medium-dose 6-shogaol group than in the aging model group. The findings of this study suggest that 6-shogaol ameliorates oxidative-stress-induced damage to important organs in aging mice.

**Key words:** 6-shogaol; D-galactose; oxidative stress; antioxidation; anti-aging

中国老龄化问题日益突出,到2020年,65岁以上人口占总人口的13.5%,远高于全球(9.4%)的老龄化水平<sup>[1]</sup>。预计到2050年,我国60岁以上人口将增至4.8亿<sup>[2]</sup>。随着人口老龄化人数的增加,与年龄有关的疾病发病率也随之增加<sup>[3]</sup>。自然衰老过程中的老年性退行性改变是一种涉及氧自由基的产生、血管内皮损伤、端粒酶活性降低、细胞凋亡等复杂的、多因素、多途径的病理生理过程<sup>[4]</sup>,它会影响到器官或组织的功能和结构。随着时间的推移,器官或组织的衰老会导致身体功能和精神状态逐渐下降,并增加罹患疾病的风险,最终导致死亡<sup>[5]</sup>。而D-gal诱导的小鼠衰老模型因其与自然衰老相似的特征而被广泛应用于抗衰老相关研究。当机体积累过量的D-gal时,D-半乳糖氧化酶会将其转化为醛糖和氢过氧化物,从而导致活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)和糖基化终末产物(Advanced Glycation End Products, AGE)的产生<sup>[6]</sup>,并严重损伤心脏<sup>[7]</sup>、肾脏<sup>[8]</sup>和睾丸<sup>[9]</sup>组织。

饮食、药物、运动等途径是延缓衰老进程的有效方式<sup>[10]</sup>,而研究延缓衰老的食物或有效成分成为越来越多的学者关注的问题。槲皮素为植物衍生的多酚类化合物,抗氧化、抗炎、抗衰老作用尤为突出,它的药效已被各种研究证实并用于各种药物中,可预防与年龄有关的疾病<sup>[11-13]</sup>。而6-姜烯酚是生姜中的主要活性成分,与槲皮素都属于多酚类,且具有抗氧化、抗肿瘤和抗炎的药理学及生理学功效<sup>[14]</sup>。Guo等<sup>[15]</sup>发现6-姜烯酚可以减轻脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导的肝脏抗氧化酶的损伤,降低丙二醛水平并抑制肝脏的炎症反应。Gwon等<sup>[16]</sup>研究结果表明,6-姜烯酚能通过抑制氧化应激、减少肾小管细胞的死亡以及抑制炎症的发生,来治疗顺铂诱导的急性肾损伤(Acute Kidney Injury, AKI)。且6-姜烯酚还可以修复异丙肾上腺素(Isoprenaline, ISO)诱导的心肌损伤<sup>[17]</sup>,同时也

可以通过调节肠脑轴来减轻帕金森病(Parkinson's Disease, PD)<sup>[18]</sup>。还有研究表明,药物改善D-半乳糖(D-gal)诱导的小鼠衰老可表现为对心脏<sup>[19,20]</sup>、肾脏<sup>[8]</sup>和睾丸<sup>[9]</sup>组织氧化应激损伤的保护。然而,6-姜烯酚在抗衰老方面的研究仍然较少。本研究通过使用D-半乳糖诱导小鼠衰老来模拟当衰老发生时的病理变化,并从氧化应激的角度,评估6-姜烯酚对衰老小鼠组织器官氧化损伤的影响,为6-姜烯酚的开发和利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

C57BL/6 雄性小鼠 48 只,8 周龄,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SCXK(湘)2016-0002。所有小鼠均饲养于桂林医学院动物中心 SPF 级实验动物房。本实验经本院伦理委员会批准(审查编号:GLMC-IACUC-2021026),实验动物符合 3R 原则。

### 1.2 材料与试剂

6-姜烯酚(纯度 $\geq 98\%$ ),成都格利普生物有限公司;D-半乳糖,美国Sigma公司;槲皮素,MCE;二甲基亚砷(Dimethyl Sulfoxide, DMSO),广州汉强生物技术有限公司;PEG300, MCE; Tween80, MCE; BCA (Bicinchoninic Acid Assay) 蛋白浓度测定试剂盒(增强型),上海碧云天生物技术有限公司;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)、总超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒,南京建成生物工程研究所; $\beta$ -半乳糖苷酶(SA- $\beta$ -Gal)染色试剂盒,北京索莱宝科技有限公司。

### 1.3 动物分组与给药

将48只8周龄C57BL/6雄性小鼠,适应性喂养1周后,随机分为6组(8只/组):1)正常组;

2) 衰老模型组; 3) 低剂量 6-姜烯酚组; 4) 中剂量 6-姜烯酚组; 5) 高剂量 6-姜烯酚组; 6) 槲皮素阳性对照组。将 10% DMSO, 40% PEG300, 5% Tween-80, 45% 生理盐水混匀, 配制成溶液  $\geq 2.5$  mg/mL (8.27 nmol/L) 的溶剂。正常组: 灌胃等量溶剂后腹腔注射等量生理盐水; 衰老模型组: 灌胃等量溶剂, 腹腔注射 D-gal (200 mg/kg)<sup>[21]</sup>; 6-姜烯酚组参考赵位昆等<sup>[22]</sup>的方法, 结合 Ishaq 等<sup>[23]</sup>和苗艳丰等<sup>[24]</sup>的给药剂量范围并适当调整。低剂量组—腹腔注射等量 D-gal, 灌胃 6-姜烯酚 (6 mg/kg); 中剂量组—腹腔注射等量 D-gal, 灌胃 6-姜烯酚 (12 mg/kg); 高剂量组—腹腔注射等量 D-gal, 灌胃 6-姜烯酚 (18 mg/kg); 槲皮素阳性对照组: 腹腔注射等量 D-gal, 同时灌胃槲皮素 (100 mg/kg)<sup>[25]</sup>。各组均按实验程序进行 42 d, 建模完成后于第二天进行各实验指标的检测。

#### 1.4 小鼠脏器系数测定

采血前小鼠禁食 24 h, 称重, 腹腔注射 1.25% 阿佛丁, 剂量为 0.02 mL/g, 麻醉后立即解剖, 从腹主动脉采血, 室温静置 30 min 后, 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清, -80 °C 保存。然后取出小鼠心脏、肾脏和睾丸称重, 在 -80 °C 下保存。心脏、肾脏和睾丸系数分别按以下公式 (1) 计算。

$$B = \frac{m_1}{m_2} \quad (1)$$

式中:

B—脏器系数 (VI), mg/g;

$m_1$ —组织质量, mg;

$m_2$ —小鼠体质量, g。

#### 1.5 小鼠心脏、肾脏和睾丸组织病理学观察

小鼠心脏、肾脏和睾丸在 4% 磷酸缓冲多聚甲醛中固定 24 h, 切片经苏木精-伊红 (HE) 染色, 由桂林医学院附属医学院病理科完成病理学检查。

#### 1.6 衰老相关 $\beta$ -半乳糖苷酶染色

将小鼠心脏、肾脏和睾丸组织石蜡切片经常规脱蜡、水化处理后, 严格按照 SA- $\beta$ -Gal 染色试剂盒说明书步骤进行操作。在加入 30  $\mu$ L 的 SA- $\beta$ -Gal 染色固定液后, 于室温下固定 15 min, 并以 PBS 洗 3 次再滴加按比例配制的 30  $\mu$ L 染色工作液于切片上, 保鲜膜封闭置于 37 °C 环境孵育过夜; 次日封片后置于光学显微镜下观察并通过光学显微镜拍照记录结

果, 阳性表达呈蓝色。

#### 1.7 小鼠组织中生化指标测定

参照氧化应激试剂盒说明书, 分别测定小鼠心脏、肾脏和睾丸的 SOD、GSH-Px 活力和 MDA 含量。

#### 1.8 数据处理

使用 Excel 2021 和 SPSS 28.0 软件对数据进行分析和处理, 结果以“均值  $\pm$  标准差” ( $\bar{x} \pm S$ ) 表示。组间比较采用单因素方差分析 (Analysis of Variance, ANOVA), 两组间差异采用最小显著差异 (Least Significant Difference, LSD) 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 6-姜烯酚对衰老小鼠脏器系数的影响

表 1 6-姜烯酚对衰老小鼠脏器系数的影响 (mg/g)

组别	心脏	肾脏	睾丸
正常组	4.54 $\pm$ 0.33*	22.74 $\pm$ 0.43*	15.90 $\pm$ 1.68*
衰老模型组	3.79 $\pm$ 0.25	21.61 $\pm$ 0.96#	12.83 $\pm$ 0.86
槲皮素阳性对照组	4.29 $\pm$ 0.15*	23.26 $\pm$ 0.81*	14.71 $\pm$ 0.68*
6-姜烯酚 (6 mg/kg)	4.27 $\pm$ 0.40*	22.36 $\pm$ 0.96#	14.07 $\pm$ 1.22 <sup>▲</sup>
6-姜烯酚 (12 mg/kg)	4.48 $\pm$ 0.20*	24.43 $\pm$ 0.82* <sup>▲</sup>	15.07 $\pm$ 0.66*
6-姜烯酚 (18 mg/kg)	4.35 $\pm$ 0.22*	23.08 $\pm$ 0.78*	14.21 $\pm$ 0.99 <sup>▲</sup>
P 值	0.001	0.001	0.001

注: \*表示与衰老模型组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ); #表示与阳性对照组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ); <sup>▲</sup>表示与正常组相比差异显著 ( $P < 0.05$ )。表 2~4 相同。

脏器系数可以反映出动物组织器官的损伤变化情况和整体营养情况, 是判断小鼠衰老与否的重要指标。而心脏, 肾脏, 睾丸作为机体的重要的器官, 随着年龄的增长, 组织器官的衰老萎缩会直接导致其功能的退化<sup>[26]</sup>。对各组小鼠心脏、肾脏、睾丸系数进行评价, 结果如表 1 所示。与正常组相比, 其他组心脏、肾脏和睾丸均有不同程度的萎缩现象; 不同浓度 6-姜烯酚组的小鼠心脏、肾脏及睾丸系数与正常组比较大体降低, 但与衰老组相比, 中剂量和高剂量 6-姜烯酚组脏器系数均升高 ( $P < 0.05$ )。

这表明 6-姜烯酚各剂量组能不同程度地提高衰老小鼠心脏、肾脏及睾丸系数,其中中、高剂量组效果最为明显。这与李赓等<sup>[7]</sup>用人参皂苷 Rg1 抗小鼠衰老, Rg1 干预组心脏系数升高;张宇彤等<sup>[8]</sup>以红豆杉抗肾脏衰老,肾脏系数显著高于衰老组;周意等<sup>[9]</sup>研究玛咖多糖抗睾丸衰老作用,结果显示,中剂量玛咖多糖组睾丸系数显著升高相同。表明 6-姜烯酚与人参皂苷 Rg1、红豆杉以及玛咖多糖类似,这些研究虽与本实验在 D-gal 造模的浓度和时间的选择上有区别,但均表现出类似的衰老趋势, D-gal 会导致小鼠的脏器萎缩,加速衰老进程,而干预组的药物均在一定程度上缓解脏器系数的降低。说明 6-姜烯酚能减缓衰老小鼠心脏、肾脏及睾丸组织的萎缩的发生,从而在一定程度上发挥抗衰老作用。

## 2.2 衰老小鼠心脏、肾脏和睾丸组织病理学观察

### 2.2.1 小鼠心脏组织切片观察

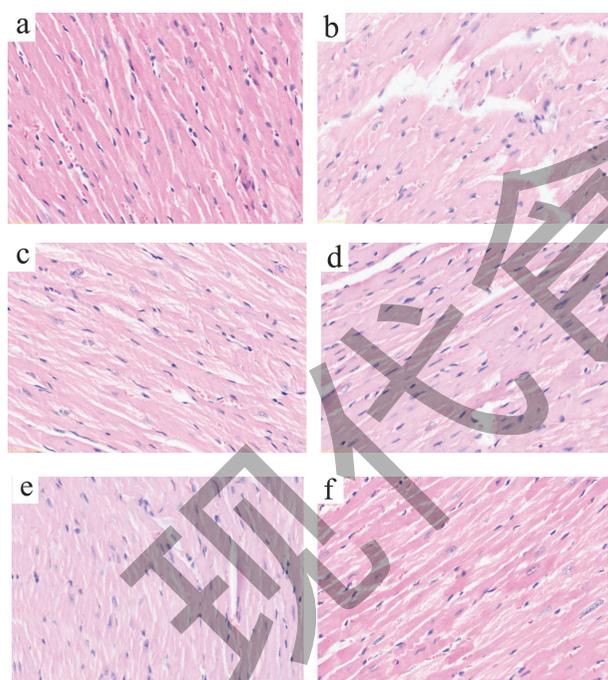


图 1 小鼠心脏组织病理切片图 (HE 染色, ×20)

Fig.1 Pathological section of mouse heart tissue

注: a. 正常组; b. 衰老模型组; c. 槲皮素阳性对照组; d. 低剂量组; e. 中剂量组; f. 高剂量组。下同。

心脏衰老是一个慢性的过程,主要涉及到心肌细胞排列的改变。间质水肿、脂肪变及心肌纤维化是心肌衰老的常见组织学特征<sup>[7]</sup>。如图 1 可见,正常组小鼠心脏中的心肌纤维呈不规则的有分支的短圆柱形。连接处可见闰盘,多数为一或两个细胞

核,细胞中央为卵圆形核。明暗相间的横纹隐约可见。相比之下,衰老模型组小鼠的心肌细胞排列紊乱,间质水肿,间隙增大,心肌断裂,部分心肌细胞坏死呈空泡状,细胞核周围的胞质减少,且可见大量脂褐素沉积,说明 D-gal 诱导的衰老小鼠心脏组织发生了病理学形态变化,造模成功。用 6-姜烯酚进行干预后,小鼠心肌细胞的状况得到明显改善,随着 6-姜烯酚浓度的增加,心肌细胞坏死减少,细胞间质减少,细胞间隙变窄,脂褐素沉积减少。槲皮素阳性对照组较衰老模型组有较大改善,心肌细胞病理形态与中剂量组相近,但部分排列仍较紊乱。说明 6-姜烯酚能拮抗 D-gal 对小鼠心脏组织形态结构的损伤作用。

### 2.2.2 小鼠肾脏组织切片观察

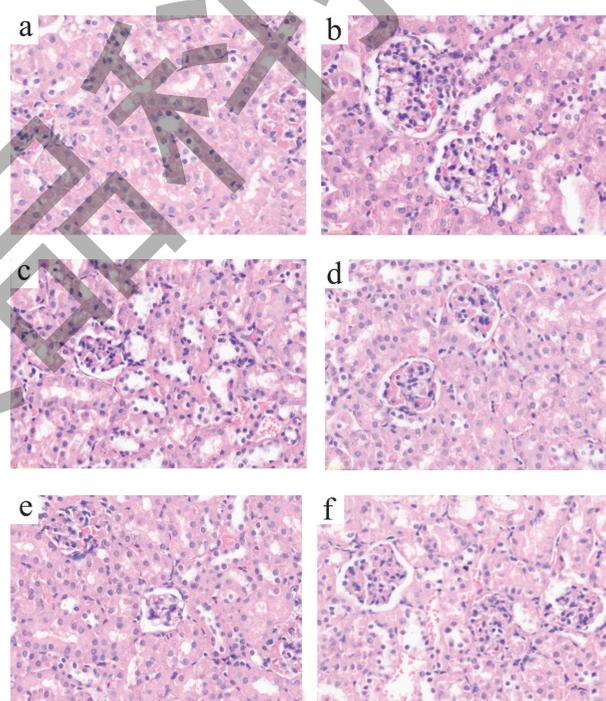


图 2 小鼠肾脏组织病理切片图 (HE 染色, ×20)

Fig.2 Pathological section of mouse kidney

D-gal 可导致肾脏组织中发生肾小球萎缩、肾小囊腔扩大、肾小管排列松散、管壁上皮细胞边界模糊等形态变化<sup>[8,20]</sup>。HE 染色结果表明 (图 2), 6-姜烯酚能够明显改善衰老小鼠肾小体形态,保护肾脏免受氧化应激损伤。正常组小鼠肾脏组织中的肾小体数量正常,呈球形,较规整,肾小球毛细血管襻密集,肾小囊腔狭小。近曲小管管腔不甚规则,上皮细胞分界不清,胞体较大,细胞核圆居近基底部。远曲小管管腔大且规则,细胞核居中央或靠近管腔。而衰老模型组小鼠肾小体直径增大,肾小球

松散且体积缩小, 肾小囊腔增宽。肾小管上皮细胞增生肥大, 管腔变窄。经 6-姜烯酚干预后的小鼠, 肾小球萎缩症状得到改善, 随着 6-姜烯酚浓度的增加, 肾小体数量逐渐恢复正常, 肾小囊腔变窄, 肾小管形态也逐渐恢复。槲皮素阳性对照组少量肾小球缩向血管极一侧, 肾小体及肾小囊腔大小接近中剂量组。该研究结果与 Yi 等<sup>[27]</sup>报道的, 6-姜烯酚能够改善糖尿病小鼠肾脏形态变化, 减轻肾脏细胞损伤的发现一致。

### 2.2.3 小鼠睾丸组织切片观察

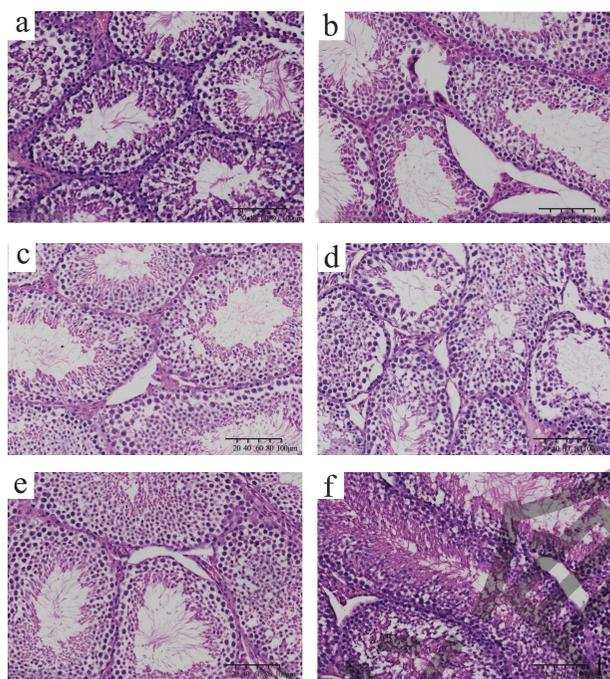


图3 小鼠睾丸组织病理切片图(HE染色,  $\times 20$ )

Fig.3 Pathological section of mouse testicle

睾丸是机体重要的生殖器官, 当睾丸组织中的支持细胞和间质细胞大量受损后, 精子的生成和雄激素的分泌会受到显著影响<sup>[28]</sup>。图3可见, 正常组小鼠睾丸组织中的生精小管内由基底部至腔面, 依次有各级生精细胞、精子和支持细胞。精子形似蝌蚪, 头部嵌入支持细胞, 尾部游离于生精小管腔。支持细胞呈不规则长锥体形, 细胞核呈卵圆形, 染色浅, 细胞体从基底直达腔面。而衰老模型组小鼠生精小管管腔变窄, 且生精细胞排列松散且无序精子减少, 支持细胞的胞核形态不规则, 且可见大量脂褐素沉积。经 6-姜烯酚干预后的小鼠, 部分生精小管形态正常。随着 6-姜烯酚浓度增加, 精子数量变多, 支持细胞形态趋于正常, 脂褐素沉积变少。槲皮素阳性对照组有明显改善, 病理形态介于中剂

量组和高剂量组之间。睾丸组织病理切片结果表明, 6-姜烯酚能明显改善生精小管形态异常及精子和间质细胞数量减少, 对 D-gal 所致的睾丸损伤有保护作用。

### 2.3 6-姜烯酚对小鼠组织器官的衰老的影响

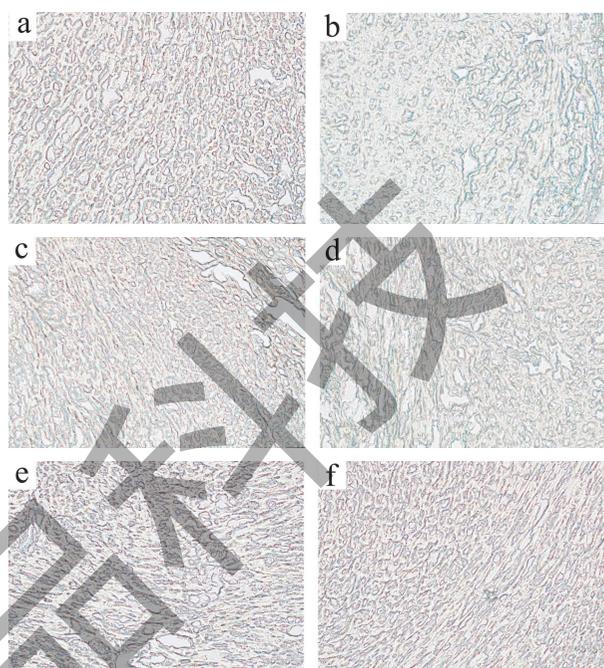


图4 小鼠心脏组织  $\beta$ -半乳糖苷酶衰老染色实验 ( $\times 20$ )

Fig.4 Senescence-associated- $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -Gal) staining of mouse heart tissue

$\beta$ -Gal 活性上调是衰老细胞的一个重要标志。本研究中, 我们辅以 SA- $\beta$ -Gal 染色来评估小鼠心脏、肾脏和睾丸的衰老。可见衰老模型组小鼠心脏有较多 SA- $\beta$ -Gal 阳性细胞, 其他各组均未见明显蓝染(图4); 肾脏组织的染色结果显示(图5), 与正常组相比, 衰老模型组小鼠肾脏的 SA- $\beta$ -Gal 蓝染面积较大, 且 SA- $\beta$ -Gal 染色的区域主要分布于肾小管, 而中剂量 6-姜烯酚组未见蓝染区域; 与正常组比较(图6), 衰老模型组睾丸组织中  $\beta$ -Gal 在细胞质中阳性表达增加, 而槲皮素阳性对照组和中剂量 6-姜烯酚组  $\beta$ -Gal 在细胞质中阳性表达减少。上述结果表明 D-gal 诱导的衰老组心脏、肾脏和睾丸组织都出现了不同程度的衰老, 这与其他研究类似<sup>[29-31]</sup>。我们的结果发现 6-姜烯酚具有拮抗 D-gal 诱导的心脏、肾脏和睾丸组织衰老作用, 这与俞悦等<sup>[30]</sup>使用烟酰胺单核苷酸抗肾脏衰老和邱竹等<sup>[31]</sup>用当归多糖拮抗睾丸衰老的作用相似, 说明 6-姜烯酚具有和烟酰胺单核苷酸和当归多糖等相似的抗衰老作用。

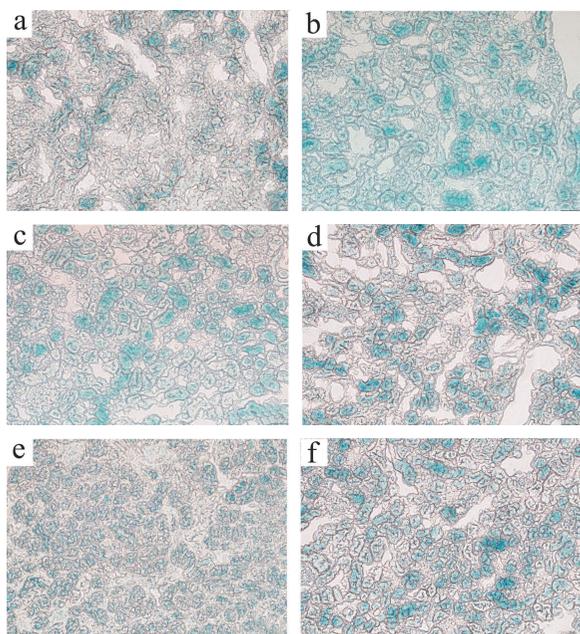


图5 小鼠肾脏组织β-半乳糖苷酶衰老染色实验(×20)  
Fig.5 Senescence-associated-β-galactosidase (SA-β-Gal) staining of mouse kidney (×20)

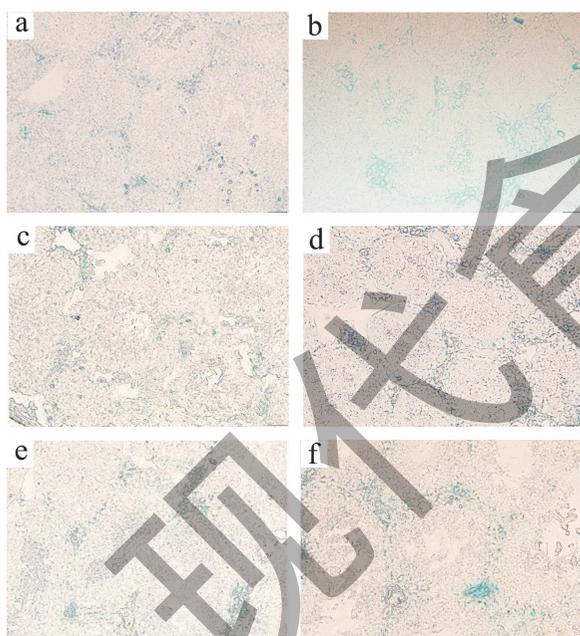


图6 小鼠睾丸组织β-半乳糖苷酶衰老染色实验(×20)  
Fig.6 Senescence-associated-β-galactosidase (SA-β-Gal) staining of mouse testicle (×20)

## 2.4 6-姜烯酚对衰老小鼠脏器氧化损伤指标的影响

### 2.4.1 6-姜烯酚对衰老小鼠心脏中氧化损伤指标的影响

由表2可知,衰老模型组小鼠心脏SOD、GSH-Px活性与正常组相比有显著降低( $P<0.05$ ),分别降

低了15.79%和22.73%,而MDA含量显著增加( $P<0.05$ ),升高了42.68%。说明D-gal引起小鼠心脏组织中抗氧化酶活性下降,氧化还原体系被破坏,进而造成氧化损伤。与衰老模型组相比,其他组小鼠心脏抗氧化酶活力升高、过氧化产物水平下降,其中,中剂量和高剂量6-姜烯酚组心脏中抗氧化酶SOD和GSH-Px活性都显著升高( $P<0.05$ ),脂质过氧化物MDA含量显著降低( $P<0.05$ )。这表明6-姜烯酚能够提高衰老小鼠心脏的抗氧化能力,降低脂质过氧化物对小鼠心脏造成的损伤。Li等<sup>[17]</sup>用85 mg/kg异丙肾上腺素建立心肌梗死模型,用6-姜烯酚拮抗心肌梗死研究,发现6-姜烯酚可提高心肌梗死大鼠SOD、过氧化氢酶、GSH-Px和GSH活性水平,这与本文研究一致。此研究虽然在造模剂的选择上与本实验有所区别,但在6-姜烯酚对心脏氧化应激损伤的保护作用上,表现出相同的趋势。这说明6-姜烯酚具有较好的心脏保护作用,其机制可能是通过增强细胞抗氧化、抑制氧化应激反应介导的。

表2 6-姜烯酚对衰老小鼠心脏SOD、GSH-Px、MDA含量的影响

Table 2 Effects of 6-Shogaol on the contents of SOD, GSH-Px and MDA in the heart of aging mice ( $\bar{x}\pm S, n=8$ )

组别	SOD/(U/mg)	GSH-Px/(mol/mg)	MDA/(nmol/mg)
正常组	28.95 ± 1.22	191.43 ± 27.21	1.57 ± 0.20
衰老模型组	24.38 ± 1.31 <sup>▲</sup>	147.92 ± 11.48 <sup>▲</sup>	2.24 ± 0.12 <sup>▲</sup>
槲皮素阳性对照组	27.33 ± 0.94	178.40 ± 17.33	1.73 ± 0.25 <sup>*</sup>
6-姜烯酚(6 mg/kg)	28.49 ± 1.47 <sup>*</sup>	175.48 ± 15.96	1.69 ± 0.14 <sup>*</sup>
6-姜烯酚(12 mg/kg)	30.42 ± 2.22 <sup>*</sup>	202.77 ± 8.10 <sup>*</sup>	1.53 ± 0.02 <sup>*</sup>
6-姜烯酚(18 mg/kg)	27.96 ± 2.72 <sup>*</sup>	186.25 ± 20.62 <sup>*</sup>	1.70 ± 0.20 <sup>*</sup>
P值	0.023	0.024	0.006

### 2.4.2 6-姜烯酚对衰老小鼠肾脏中氧化损伤指标的影响

肾脏在衰老相关组织损伤中是典型的靶器官,是衰老过程中较易受损伤且表现出明显变化的器官<sup>[30]</sup>。与正常组相比(表3),衰老模型组、槲皮素阳性对照组、低剂量和高剂量6-姜烯酚组肾脏GSH-Px活性显著降低( $P<0.05$ )。中剂量6-姜烯酚组的抗氧化酶SOD、GSH-Px活性显著高于槲皮素阳性对照组( $P<0.05$ )。与衰老模型组相比,不同浓度6-姜烯酚组均可升高小鼠肾脏中SOD和GSH-Px的活性,降低MDA含量。中剂量6-姜

烯酚组肾脏组织 SOD 和 GSH-Px 活性显著升高 ( $P < 0.05$ ), 增加幅度分别为 39.06% 和 43.30%, 而 MDA 含量显著降低 ( $P < 0.05$ ), 降低了 29.47%。说明 6-姜烯酚可以通过增强组织的抗氧化能力, 减轻肾脏中的脂质过氧化损伤, 保护衰老小鼠的肾脏。目前没有研究针对 6-姜烯酚对肾脏氧化应激损伤的作用效果, 但有研究表明 6-姜烯酚对糖尿病小鼠肾脏具有保护作用<sup>[27]</sup>, 其机制可能是通过缓解氧化应激损伤实现的。此外, 江梦丽等<sup>[32]</sup>对镉中毒大鼠的研究中发现, 槲皮素对肾脏的氧化损伤具有保护作用, 具体表现为槲皮素组的 SOD 和 CAT 活性显著升高, MDA 显著降低, 与本研究结果不同的是, 模型组 GSH 含量显著升高, 这可能是因为其设计方案与本研究不同, 使得他们的研究结果也有所区别。

表 3 6-姜烯酚对衰老小鼠肾脏 SOD、GSH-Px、MDA 含量的影响

Table 3 Effects of 6-Shogaol on the contents of SOD, GSH-Px and MDA in kidney of aging mice ( $\bar{x} \pm S, n=8$ )

组别	SOD/(U/mg)	GSH-Px/(mol/mg)	MDA/(nmol/mg)
正常组	24.23 ± 2.08 <sup>*</sup>	165.98 ± 25.18 <sup>*#</sup>	2.73 ± 0.49
衰老模型组	19.28 ± 2.30	103.64 ± 13.38 <sup>▲</sup>	3.19 ± 0.58 <sup>#</sup>
槲皮素阳性对照组	20.84 ± 1.55	113.30 ± 11.22 <sup>▲</sup>	2.30 ± 0.42 <sup>*</sup>
6-姜烯酚 (6 mg/kg)	22.29 ± 2.75	122.20 ± 25.85 <sup>▲</sup>	2.69 ± 0.09
6-姜烯酚 (12 mg/kg)	26.81 ± 3.11 <sup>*#</sup>	148.52 ± 9.50 <sup>*#</sup>	2.25 ± 0.17 <sup>*</sup>
6-姜烯酚 (18 mg/kg)	20.60 ± 0.27	130.63 ± 16.39 <sup>▲</sup>	2.91 ± 0.52 <sup>#</sup>
P 值	0.013	0.002	0.037

#### 2.4.3 6-姜烯酚对衰老小鼠睾丸中氧化损伤指标的影响

衰老使得睾丸组织产生退行性变化, 从而严重影响睾酮的产生, 造成机体代谢紊乱、激素失衡等一系列生理病理变化<sup>[28]</sup>。6-姜烯酚对 D-半乳糖致衰老小鼠睾丸中氧化损伤指标的影响如表 4 所示。与正常组相比, 衰老模型组小鼠睾丸中 SOD 和 GSH-Px 活性显著降低 ( $P < 0.05$ ), 分别降低了 14.71% 和 31.17%、MDA 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ), 达 63.37%。与衰老模型组相比, 槲皮素阳性对照组、中剂量和高剂量 6-姜烯酚组小鼠睾丸中 SOD 和 GSH-Px 活性显著提高的同时 MDA 含量显著降低 ( $P < 0.05$ )。中剂量 6-姜烯酚组睾丸的 SOD 活性显著高于槲皮素阳性对照组 ( $P < 0.05$ )。上述研

究结果与 Ghilissi 等<sup>[33]</sup>的不一致, 他们用干姜来保护雄性糖尿病大鼠的生殖功能, 结果发现 MDA 水平显著提高, 且睾丸 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性也升高。可能的原因是他们使用的是干姜, 未对单一的 6-姜烯酚进行单独分析, 虽然 6-姜烯酚在干姜中的含量达到近五分之一, 但仍有大量其他组分影响结果, 而本实验仅研究 6-姜烯酚对小鼠脏器氧化应激损伤的影响, 因此, 结果存在一定差异。但邱竹等<sup>[31]</sup>用当归多糖作为干预药物也得到了类似的结果: 当归多糖能够拮抗 D-gal 诱导的衰老小鼠的睾丸的氧化损伤, 与 D-gal 组相比, 干预组 SOD 和总抗氧化能力活性显著提高, MDA 含量显著降低, 同时, 当归多糖增加 SOD 水平低于本研究中 6-姜烯酚的研究结果。说明 6-姜烯酚具有较好的提高小鼠睾丸中抗氧化酶活性的能力, 从而改善 D-gal 诱导的睾丸氧化应激损伤, 延缓睾丸的衰老。

表 4 6-姜烯酚对衰老小鼠睾丸 SOD、GSH-Px、MDA 含量的影响

Table 4 Effects of 6-Shogaol on the contents of SOD, GSH-Px and MDA in testis of aging mice ( $\bar{x} \pm S, n=8$ )

组别	SOD/(U/mg)	GSH-Px/(mol/mg)	MDA/(nmol/mg)
正常组	12.98 ± 0.77	54.67 ± 7.90	1.01 ± 0.00
衰老模型组	11.07 ± 0.09 <sup>▲</sup>	37.63 ± 8.91 <sup>▲</sup>	1.65 ± 0.13 <sup>▲</sup>
槲皮素阳性对照组	12.28 ± 0.96	46.73 ± 7.83	1.26 ± 0.33 <sup>*</sup>
6-姜烯酚 (6 mg/kg)	12.24 ± 0.66	48.36 ± 7.00	1.21 ± 0.09 <sup>*</sup>
6-姜烯酚 (12 mg/kg)	14.30 ± 0.88 <sup>*#▲</sup>	58.16 ± 5.74 <sup>*</sup>	1.00 ± 0.08 <sup>*</sup>
6-姜烯酚 (18 mg/kg)	12.64 ± 0.44 <sup>*</sup>	56.75 ± 4.24 <sup>*</sup>	1.21 ± 0.09 <sup>*</sup>
P 值	0.003	0.034	0.004

### 3 结论

6-姜烯酚干预能提高 D-gal 诱导的衰老小鼠的心脏系数、肾脏系数和睾丸系数; 心脏、肾脏和睾丸组织病理切片结果表明, 6-姜烯酚能改善衰老小鼠心肌细胞变性坏死, 肾小球萎缩, 支持细胞、间质细胞减少, 对衰老小鼠心脏、肾脏和睾丸的损伤有一定的保护作用;  $\beta$ -半乳糖苷酶染色结果显示蓝染减少, 器官衰老程度有明显改善; 增强抗氧化酶 GSH-Px 和 SOD 活性, 降低脂质过氧化物 MDA 的含量, 研究结果提示, 6-姜烯酚能通过提高小鼠体内抗氧化能力和抑制氧化应激引起的器官损伤来减缓衰老。而这一结果也为 6-姜烯酚在延缓或预防衰

老相关疾病的药品或保健功能性食品的开发应用提供了实验室依据。

### 参考文献

- [1] 刘厚莲.世界和中国人口老龄化发展态势[J].老龄科学研究,2021,9(12):1-16.
- [2] 闫海春.人口老龄化对中国经济增长的影响及对策研究[D].长春:吉林大学,2019.
- [3] LI L, LI Y, LUO J, et al. Resveratrol, a novel inhibitor of GLUT9, ameliorates liver and kidney injuries in a D-galactose-induced ageing mouse model via the regulation of uric acid metabolism [J]. Food Funct, 2021, 12(18): 8274-8287.
- [4] 李露,刘晓茜,徐梦露,等.褪黑素对自然衰老大鼠肾脏保护作用的研究[J].药学服务与研究,2021,21(2):81-85.
- [5] MOHD S N, MAKPUL S. Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in the prevention of ageing and degenerative diseases: review of current evidence [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 8(24): 5054395-5054408.
- [6] AZMAN K F, ZAKARIA R. D-Galactose-induced accelerated aging model: an overview [J]. Biogerontology, 2019, 20(6): 763-782.
- [7] 李赓,汪子铃,候吉颖,等.人参皂苷Rg1对D-半乳糖所致小鼠心肌损伤的保护作用[J].第三军医大学学报,2021, 43(11):1074-1079.
- [8] 张宇彤,李欣然,焦文轩,等.红豆杉多糖对D-半乳糖致衰老小鼠肾脏抗氧化作用研究[J].黑龙江科学,2023, 14(20):98-101.
- [9] 周意,朱乐枚,刘卫平,等.玛咖多糖对D-半乳糖衰老模型小鼠生殖器官的保护作用[J].世界中医药,2023, 18(8):1091-1095.
- [10] 牛佳玮,莫玲,王子铨,等.恭城油茶减轻D-半乳糖致小鼠衰老的氧化应激[J].现代食品科技,2021,37(4):1-6.
- [11] CUI Z, ZHAO X, AMEVOR F K, et al. Therapeutic application of quercetin in aging-related diseases: SIRT1 as a potential mechanism [J]. Front Immunol, 2022, 13(7): 943321-943347.
- [12] EL FAR A H, LEBDA M A, NORELDIN A E, et al. Quercetin attenuates pancreatic and renal D-Galactose-induced aging-related oxidative alterations in rats [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(12): 4348-4371.
- [13] DEEPIKA, MAURYA P K. Health benefits of quercetin in age-related diseases [J]. Molecules, 2022, 27(8): 2479-2493.
- [14] 王宇锋,杨春,王勇,等.6-姜烯酚药理作用研究进展[J].宁夏医科大学学报,2017,39(6):731-733.
- [15] GUO X, QIU J, QIAN Y. 6-Shogaol mitigates sepsis-associated hepatic injury through transcriptional regulation [J]. Nutrients, 2021, 13(10): 3427-3442.
- [16] GWON M G, GU H, LEEM J, et al. Protective effects of 6-Shogaol, an active compound of ginger, in a murine model of cisplatin-induced acute kidney injury [J]. Molecules, 2021, 26(19): 5931-5945.
- [17] LI H, SHEN J, ZHANG Y, et al. 6-Shogaol protects against isoproterenol-induced cardiac injury in rats through attenuating oxidative stress, inflammation, apoptosis and activating nuclear respiratory factor-2/heme oxygenase-1 signaling pathway [J]. J Physiol Pharmacol, 2022, 73(6): 737-744.
- [18] HUH E, CHOI J G, CHOI Y, et al. 6-Shogaol, an active ingredient of ginger, improves intestinal and brain abnormalities in proteus mirabilis-induced Parkinson's disease mouse model [J]. Biomol Ther (Seoul), 2023, 31(4): 417-424.
- [19] 刘尧,张建军,李振皓,等.基于对衰老大鼠心脏抗氧化保护作用及Keap1-Nrf2-HO-1通路探讨川芎临床“久服”用药策略[J].环球中医药,2022,15(12):2321-2328.
- [20] 侯晓宁,张育昆,陈祉晴,等.虾青素对D-半乳糖致衰老大鼠肾脏和心脏组织氧化损伤的修复作用[J].现代食品科技,2022,38(12):146-153.
- [21] SINGH S, VRISHNI S, SINGH B K, et al. Nrf2-ARE stress response mechanism: a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases [J]. Free Radic Res, 2010, 44(11): 1267-1288.
- [22] 赵位昆.不同剂量6-姜酚对心肌缺血再灌注损伤炎症反应的影响[D].桂林:桂林医学院,2019.
- [23] ISHAQ S, SIYAR S, BASRI R, et al. Neuroprotective effects of shogaol in metals (Al, As and Pb) and high-fat diet-induced neuroinflammation and behavior in mice [J]. Curr Mol Pharmacol, 2023, 16(7): 725-750.
- [24] 苗艳丰,卫贺,李诚,等.干姜干热药性活性分子的筛选与抗小鼠低温冻伤的甲状腺氧化应激保护作用机制[J].中草药,2022,53(17):5379-5388.
- [25] LEE D H, LEE T H, JUNG C H, et al. Wogonin induces apoptosis by activating the AMPK and p53 signaling pathways in human glioblastoma cells [J]. Cell Signal, 2012, 24(11): 2216-2225.
- [26] 李嘉欣,钱欣,赵俊捷,等.衰老对心脏结构和功能的影响与机制的研究[J].心脏杂志,2020,32(2):190-192.
- [27] YI J K, RYOO Z Y, HA J J, et al. Beneficial effects of 6-shogaol on hyperglycemia, islet morphology and apoptosis in some tissues of streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Diabetol Metab Syndr, 2019, 11(15): 1-13.
- [28] 王静,陈冬梅,陈苗,等.二甲双胍调节自噬保护亚急性衰老大鼠睾丸功能的作用[J].中国新药杂志,2022,31(17): 1752-1760.
- [29] 周荧,苑婕,吕东颖,等.D-半乳糖诱导的衰老大鼠心脏S100A8/A9及相关炎症通路基因表达的研究[J].中国病理生理生理杂志,2023,39(10):1746-1755.
- [30] 俞悦,张宇,陈雨婷,等.烟酰胺核苷酸对D-半乳糖诱导肾脏衰老的作用[J].中华老年多器官疾病杂志,2023, 22(10):770-774.
- [31] 邱竹,姜蓉,汪子铃,等.当归多糖对D-半乳糖致衰老小鼠睾丸的保护作用[J].解剖学报,2019,50(4):506-511.
- [32] 江梦丽,陆战豪,陆思远,等.槲皮素对镉致大鼠肾脏损伤的保护作用[J].黑龙江农业科学,2021,2(12):47-52.
- [33] GHLISSI Z, ATHEYMEN R, BOUJBIHA M A, et al. Antioxidant and androgenic effects of dietary ginger on reproductive function of male diabetic rats [J]. Int J Food Sci Nutr, 2013, 64(8): 974-978.