

## 益肾活血通窍法对 D - 半乳糖致老化大鼠模型前庭内侧核 PI3K/AKT 信号通路和氧化应激的影响\*

张琦<sup>1</sup> 冷辉<sup>1\*\*</sup> 金婧<sup>2</sup> 孙嘉蔚<sup>1,2</sup> 田雨<sup>1</sup>

<sup>1</sup>辽宁中医药大学附属医院耳鼻咽喉头颈科, 沈阳 110000; <sup>2</sup>辽宁中医药大学研究生学院, 沈阳 110847

**[摘要]** 目的 观察益肾活血通窍法对 D - 半乳糖腹腔注射致老化大鼠模型前庭内侧核磷脂酰肌醇 - 3 激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (AKT) 信号通路和氧化应激表达水平的影响, 探讨益肾活血通窍法延缓前庭内侧核老化的机制。方法 18 只大鼠适应性饲养 7 d 后随机分成空白组、模型组和中药组, 各 6 只。空白组腹腔注射生理盐水 500 mg / (kg · d), 模型组、中药组腹腔注射 D - 半乳糖 500 mg / (kg · d), 连续注射 8 周。造模成功后, 空白组、模型组灌服生理盐水 18.45 g / (kg · d), 中药组灌服益肾活血通窍方 18.45 g / (kg · d), 连续灌服 8 周。末次给药后 2 h 评估各组大鼠前庭功能, 然后进行前庭内侧核取材, 通过 ELISA 法检测各组血清谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA)、活性氧 (ROS) 的表达水平, 通过 Westernblot 法检测各组前庭内侧核 PI3K、AKT1 的表达水平。结果 三组空中翻正反射实验成功率比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。模型组、中药组的头偏斜角度大于空白组, 中药组的头偏斜角度小于模型组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与空白组比较, 模型组血清 GSH 的表达水平降低, MDA、ROS 的表达水平增高, 前庭内侧核组织中 PI3K、AKT1 表达水平降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 中药组血清 GSH 表达水平及前庭内侧核中 PI3K、AKT1 表达水平升高, 血清 MDA、ROS 的表达水平降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 益肾活血通窍法对老化大鼠模型前庭内侧核具有保护作用, 其机制可能与调控 PI3K/AKT 信号通路和氧化应激相关。

**[关键词]** 益肾活血通窍法; 老化; 前庭内侧核; PI3K/AKT 信号通路; 氧化应激

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.02.007

## The Effect of Yishen Huoxue Tongqiao Method on the PI3K/AKT Signal Pathway and Oxidative Stress in the Medial Vestibular Nucleus of D - galactose Induced Aging Model Rats

Zhang Qi<sup>1</sup>, Leng Hui<sup>1\*\*</sup>, Jin Jing<sup>2</sup>, Sun Jiawei<sup>1,2</sup>, Tian Yu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of ENT & HN, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Shenyang 110000; <sup>2</sup>Graduate School, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Liaoning 110847

\*\* Corresponding author; Leng Hui, email; Lengh1976@163.com

**[Abstract]** **Objective** To observe the effects of Yishen Huoxue Tongqiao method on the PI3K/AKT signaling pathway and oxidative stress expression level in the medial vestibular nucleus of aging model rats induced by intraperitoneal injection of D - galactose, and to explore the mechanism of Yishen Huoxue Tongqiao method in delaying the aging of the medial vestibular nucleus. **Methods** After adaptive feeding of 18 rats for 7 days, they were randomly divided into a blank group, a model group, and a Traditional Chinese Medicine group, with 6 rats in each group. The blank group was intraperitoneally injected with 500 mg / (kg · d) of physiological saline, while the model group and Traditional Chinese Medicine group were intraperitoneally injected with 500 mg / (kg · d) of D - galactose for 8 consecutive weeks. After successful modeling, the blank group and model group were orally administered physiological saline at 18.45 g / (kg · d), while the Traditional Chinese Medicine group was orally administered Yishen Huoxue Tongqiao decoction at 18.45 g / (kg · d) for 8 consecutive weeks. The vestibular function of each group of rats 2 hours after the last administration was evaluated, and the samples from the medial vestibular nucleus were collected. The expression levels of glutathione (GSH),

\* 辽宁省应用基础研究计划项目 (2023JH2/101300055); 吴阶平基金 (320.6750.18332); 辽宁中医药大学附属医院“育苗工程”项目 (YM202030)

\*\* 通讯作者: 冷辉, 电子邮箱 Lengh1976@163.com

malondialdehyde (MDA), reactive oxygen species (ROS) in each group were detected by the Elisa method, and the expression levels of PI3K and AKT1 in the medial vestibular nucleus were detected by the Western blot method. **Results** There was no statistically significant difference in the success rates of three sets of aerial righting reflex tests ( $P > 0.05$ ). The head deviation angle of the model group and the Traditional Chinese Medicine group was greater than that of the blank group, while the head deviation angle of the Traditional Chinese Medicine group was smaller than that of the model group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the blank group, the expression of serum GSH in the model group decreased, while the expression of MDA and ROS increased. The expression levels of PI3K and AKT1 in the medial vestibular nucleus tissue decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the expression levels of serum GSH and PI3K and AKT1 in the medial vestibular nucleus were increased in the Traditional Chinese Medicine group, while the expression levels of serum MDA and ROS were reduced, with statistical significance ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The Yishen Huoxue Tongqiao method has a protective effect on the medial vestibular nucleus of aging model rats, and its mechanism may be related to regulating the PI3K/AKT signaling pathway and oxidative stress.

**[Key words]** Yishen Huoxue Tongqiao method; Aging; Medial vestibular nucleus; PI3K/AKT signaling pathway; Oxidative stress

随着医疗保健、诊疗技术、预防接种的逐步完善,人类预期寿命稳步增加,预估2050年全球60岁以上的人口将高达21亿,然而疾病易感性及人体脆弱性也随着老年人数量的增加及寿命的延长呈现持续增长状态。近年来,头晕、不平衡感已成为老年人群最常见的主诉之一。研究表明,限制日常活动的严重头晕的1年患病率与年龄相关,其中年龄为60岁以上的患者患病率为20%,70岁以上为30%,80岁以上高达50%<sup>[1]</sup>。此类人群中,前庭性疾病占比较高,每年约5万次的跌倒是由前庭疾病造成的。前庭系统在维持躯体稳定和保持姿势平衡方面起着重要作用,本课题组前期对2053例正常人进行的双温试验眼震最大慢相角速度与年龄的相关性研究发现,老年患者前庭功能出现减退<sup>[2]</sup>。2019年Bárány学会制定了老年性前庭病(Presby-vestibulopathy, PVP)的定义和诊断标准,该标准适用于因机体老化出现的轻度生理性前庭功能下降,这类人群表现为前庭功能不完全丧失<sup>[3]</sup>。尽早发现PVP的意义在于尽早通过主动干预以降低老年人群跌倒、摔伤的风险。中医药治疗眩晕历史悠久,临床应用益肾活血通窍法治疗耳源性眩晕缓解期患者疗效显著<sup>[4-5]</sup>。研究证实磷脂酰肌醇-3激酶(Phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(Protein kinase B, PKB即AKT)信号通路与细胞周期改变、凋亡有关,在细胞老化中发挥着非常重要的作用<sup>[6-7]</sup>。本研究基于PI3K/AKT信号通路和氧化应激研究益肾活血通窍法对老化大鼠模型前庭内侧核的保护作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级雌性SD大鼠18只,体质量180~220g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司[合格证号SCXK(辽)2020-0001],饲养于SPF级

实验室[使用许可证编号SYXK(辽)2019-0004]。实验室屏障通风循环良好,室温20~25℃,湿度45%~55%,光照12h/d。实验遵循相关规定,并通过动物实验伦理审查[批件号2023CS(DW)-003-01],大鼠饲养期间均受人道对待。

### 1.2 实验药物、试剂及仪器

益肾活血通窍法为口服益肾活血通窍方,组方包括熟地黄20g、山药15g、山萸肉20g、丹皮15g、茯苓15g、泽泻15g、枸杞20g、菊花15g、桃仁15g、红花15g、丹参15g、石菖蒲15g、炙甘草10g,饮片购自辽宁中医药大学附属医院草药局。D-半乳糖购自国药集团化学试剂有限公司(货号63004434)。兔抗鼠PI3K抗体购自英国Abcam公司(货号ab191606)、兔抗鼠AKT1抗体购自美国Proteintech公司(货号10176-2-AP)、 $\beta$ -Actin抗体购自美国SAB公司(货号21338)。谷胱甘肽(Glutathione, GSH)ELISA检测试剂盒(货号YJ531010)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)ELISA检测试剂盒(货号YJ077384)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)ELISA检测试剂盒(货号YJ026288)均购自上海酶联生物科技有限公司。仪器主要有垂直电泳槽(北京君意东方电泳设备有限公司, JY-ZY5)、化学发光成像系统(上海天能生命科学有限公司, Tanon-5200Multi)、多功能全波长酶标仪(美国Bio Tek, Epoch)等。

按方中剂量取中药饮片并加入500mL蒸馏水,煎煮前浸泡药材30min,然后置于电子万用炉上煎煮,调至高功率迅速煮沸后再调至低功率,保持沸腾状态20min。分离药液,再次加入500mL蒸馏水,按照上法继续煎煮20min,共计煎煮3次。将上述药液混合收集,混匀后浓缩至100mL,生药

浓度为 2.05 g/mL。

### 1.3 分组及建模

将 18 只大鼠适应性饲养 7 d 后, 随机分成空白组、模型组、中药组, 每组各 6 只。模型组、中药组腹腔注射 500 mg/(kg·d) 的 D-半乳糖, 连续注射 8 周进行模型制作<sup>[8]</sup>。同期, 空白组腹腔注射等量的生理盐水。

成人 (60 kg) 口服益肾活血通窍方的剂量为 3.42 g/(kg·d)。通过人与大鼠等效剂量换算公式换算大鼠经口灌服益肾活血通窍方的等效剂量为 18.45 g/(kg·d)。空白组和模型组灌服生理盐水 18.45 g/(kg·d), 中药组灌服益肾活血通窍方 18.45 g/(kg·d), 连续 8 周。

### 1.4 前庭功能评估

空中翻正反射实验用于评估前庭的动态平衡: 操作者手持清醒大鼠使其保持仰卧位姿态, 并将其置于铺设泡沫垫的地面上方约 50 cm 处, 随后放手使大鼠自由落体降落, 观察大鼠的落地姿势, 若落地姿态为俯卧位则记录为成功, 若落地姿态为侧卧位或仰卧位则记录为失败<sup>[9]</sup>。重复上述实验 5 次, 每次保证 2 min 间隔时间, 最后记录 5 次实验的成功率。

头偏斜实验用于评估前庭的静态平衡: 按照空中翻正反射实验操作进行, 在大鼠落地后 30 s, 于其正上方照相记录姿态, 设立并测量夹角  $\alpha^\circ$  (为鼻尖至肩胛正中连线与第十胸椎正中至肩胛正中连线的角度), 头偏斜度数 =  $|180^\circ - \alpha^\circ|$ <sup>[10]</sup>。重复测量 5 次取平均值。

### 1.5 ELISA 法检测血清 GSH、MDA、ROS 的表达

大鼠腹腔注射麻醉后, 抽取腹主动脉血 3 mL, 4℃ 环境下 3 000 r/min 离心 20 min, 分离血清。按照试剂盒说明书检测各组大鼠血清 GSH、MDA、ROS 表达水平。

### 1.6 Western blot 法检测前庭内侧核 PI3K、AKT1 的表达

大鼠处死后脑组织置平颅位, 于前囟后约 1 cm 横切 (小脑绒球前方), 取小脑部分, 置于冰水中, 在解剖显微镜取新鲜前庭内侧核 (50 ~ 100 mg), 置于 -80℃ 冰箱内保存待后期检测用。取 -80℃ 保存的前庭内侧核组织, 剪碎、匀浆, 裂解 30 min。4℃ 环境下 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 进行蛋白定量, 上样行 SDS-PAGE 电泳, 转膜, 加入 100 g/L 脱脂奶粉后室温封闭 1 h, 加入一抗, 4℃ 孵育过夜, 洗涤, 加入二抗室温孵育 1 h, 洗涤, 化学发光法显色, 成像扫描分析系统保存图像。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS26.0 统计学软件进行数据分析。计量

资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 数据经方差齐性检验和正态性检验, 当方差齐时多组间比较采用单因素方差分析, 两组间进一步比较采用 LSD-t 检验; 方差不齐时采用 Welch 法, 两组间进一步比较采用 Tamhane's T2 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组前庭功能评估结果比较

三组空中翻正反射实验成功率比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05)。三组头偏斜角度比较, 差异有统计学意义 (P < 0.05), 其中模型组、中药组的头偏斜角度大于空白组 (P < 0.05), 中药组的头偏斜角度小于模型组 (P < 0.05), 见表 1。

表 1 前庭功能评估结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Comparison of vestibular function assessment results ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 样本量 | 空中翻正反射实验成功率 (%) | 头偏斜角度 (°)                  |
|-----|-----|-----------------|----------------------------|
| 空白组 | 6   | 0.93 ± 0.10     | 1.600 ± 0.50               |
| 模型组 | 6   | 0.80 ± 0.13     | 5.167 ± 1.32 <sup>a</sup>  |
| 中药组 | 6   | 0.83 ± 0.15     | 3.200 ± 0.48 <sup>ab</sup> |
| F 值 |     | 1.757           | 21.575                     |
| P 值 |     | 0.206           | < 0.001                    |

注: 与空白组比较<sup>a</sup>P < 0.05; 与模型组比较<sup>b</sup>P < 0.05

### 2.2 各组血清 GSH、MDA、ROS 表达水平比较

各组血清 GSH、MDA、ROS 表达水平比较, 差异均有统计学意义 (P < 0.05)。与空白组比较, 模型组血清 GSH 表达水平降低 (P < 0.05), MDA、ROS 的表达水平增高 (P < 0.05)。与模型组比较, 中药组血清 GSH 表达水平增高 (P < 0.05), MDA、ROS 的表达水平降低 (P < 0.05), 见表 2。

表 2 血清 GSH、MDA、ROS 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

Tab. 2 Comparison of serum GSH, MDA and ROS expression levels ( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)

| 组别  | 样本量 | GSH                       | MDA                      | ROS                         |
|-----|-----|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 空白组 | 6   | 11.58 ± 1.28              | 6.02 ± 0.39              | 279.16 ± 22.51              |
| 模型组 | 6   | 9.41 ± 0.78 <sup>a</sup>  | 7.16 ± 0.36 <sup>a</sup> | 334.92 ± 6.94 <sup>a</sup>  |
| 中药组 | 6   | 10.81 ± 1.03 <sup>b</sup> | 6.44 ± 0.46 <sup>b</sup> | 300.13 ± 24.82 <sup>b</sup> |
| F 值 |     | 6.673                     | 12.081                   | 12.197                      |
| P 值 |     | 0.008                     | 0.001                    | 0.001                       |

注: 与空白组比较<sup>a</sup>P < 0.05; 与模型组比较<sup>b</sup>P < 0.05

### 2.3 各组前庭内侧核 PI3K、AKT1 表达水平比较

各组前庭内侧核 PI3K、AKT1 表达水平比较,

差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与空白组比较, 模型组前庭内侧核中PI3K、AKT1表达水平降低 ( $P < 0.05$ ), 中药组前庭内侧核中PI3K表达水平降低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 中药组前庭内侧核中PI3K、AKT1表达水平增高 ( $P < 0.05$ ), 见表3、图1。

表3 前庭内侧核PI3K、AKT1表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 Comparison of PI3K and AKT1 expression levels in medial vestibular nucleus ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 样本量 | PI3K                      | AKT1                     |
|-----|-----|---------------------------|--------------------------|
| 空白组 | 6   | 1.11 ± 0.06               | 1.05 ± 0.09              |
| 模型组 | 6   | 0.63 ± 0.14 <sup>a</sup>  | 0.62 ± 0.21 <sup>a</sup> |
| 中药组 | 6   | 0.80 ± 0.07 <sup>ab</sup> | 0.99 ± 0.16 <sup>b</sup> |
| F值  |     | 37.159                    | 12.219                   |
| P值  |     | <0.001                    | 0.001                    |

注:与空白组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$

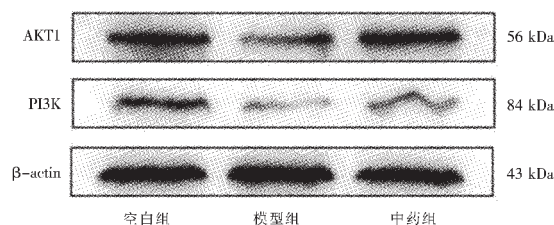


图1 前庭内侧核PI3K、AKT1表达情况

Fig. 1 Expression of PI3K and AKT1 in medial vestibular nucleus

### 3 讨论

氧化应激与各种年龄相关的疾病有关, 其中就包括与年龄相关的前庭功能丧失<sup>[11]</sup>。前庭解剖系统器质性生理退化的改变, 如耳石颗粒形态改变、毛细胞数量减少、前庭神经核退行性改变等<sup>[12]</sup>。这可能是导致老年人群前庭症状明显增多的原因。前庭神经核位于延髓嘴侧和桥脑尾侧的背外侧部, 主要分为内、外、上、下四部分。其中, 前庭内侧核的嘴侧部分接收来自半规管的传入, 并投射至第三、四、六颅神经核, 从而介导前庭眼反射, 尾侧部分与颈脊髓相互连接, 可能介导前庭丘反射, 并与小脑相连。前庭内侧核在前庭代偿中发挥重要作用, 在与年龄相关的退行性改变发生时, 轻微的前庭病变就会打破前庭平衡的状态, 导致PVP的发生<sup>[13]</sup>。因此本研究将前庭内侧核作为研究部位。

中医学认为老年眩晕, 病位多责之于肝、脾、肾三脏, 常由风、火、痰、虚、瘀兼夹致眩<sup>[14]</sup>。益肾活血通窍法根据中医肾开窍于耳、心寄窍于耳、耳为宗脉所聚、头为清窍之理论立方。以杞菊地黄汤作为基础方, 丹参起到“一味丹参饮, 功

同四物汤”的作用, 桃仁、红花用于活血祛瘀, 石菖蒲通窍, 炙甘草调和诸药, 诸药共奏益肾活血通窍之功<sup>[5]</sup>。

D-半乳糖可致全身各系统发生氧化应激和线粒体损伤, 模拟自然衰老大鼠所发生的改变, 是成熟的用于诱导动物老化模型的药物<sup>[15]</sup>。本研究通过大鼠老化模型探讨益肾活血通窍法的作用机制, 结果表明益肾活血通窍法对老化大鼠模型前庭内侧核具有保护作用, 其机制可能与调控PI3K/AKT信号通路相关, 具体表现为上调PI3K、AKT1。机体对衰老的调节与PI3K/AKT信号通路密切相关<sup>[16]</sup>。本研究结果还表明, 益肾活血通窍法对老化大鼠模型前庭内侧核具有保护作用机制可能与调控氧化应激水平相关, 具体表现为下调MDA、ROS表达水平, 上调GSH表达水平。MDA可反映抗氧化能力及过氧化损伤程度。生理状况下, 机体存在维持内稳态的ROS清除系统。病理状态下, ROS的生成与清除关系失衡导致自由基的蓄积。GSH可以催化还原H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和其他过氧化物, 防止内皮细胞受到活性自由基的损害<sup>[17]</sup>。

综上所述, PI3K/AKT信号通路和氧化应激在PVP的发生发展过程中扮演着重要角色, 作用于PI3K/AKT信号通路和氧化应激的药物有望成为治疗PVP的新方案。中医中药治疗PVP临床效果较好, 可提高患者生存质量。我国具有丰富的中药资源, 中药中含有多种活性成分对PI3K/AKT信号通路和氧化应激具有调节作用, 故拥有巨大的开发价值。但是此方向的研究起步晚, 积累少, 因此进一步发掘相关的中药及其提取物用于治疗PVP意义重大。

### 参考文献

- [1] Jönsson R, Sixt E, Landahl S, et al. Prevalence of dizziness and vertigo in an urban elderly population [J]. J Vestib Res, 2004, 14 (1): 47-52.
- [2] 张琦, 姜佳慧, 孙萌萌, 等. 2053例正常人双温试验眼震最大慢相角速度与年龄的相关性研究 [J]. 中医眼耳鼻喉杂志, 2023, 13 (1): 7-8, 12. Zhang Q, Jiang JH, Sun MM, et al. Study on the correlation between the maxSPV of nystagmus and age in 2053 normal subjects [J]. J Chin Ophthal & Otorhinolaryngol, 2023, 13 (1): 7-8, 12.
- [3] Agrawal Y, Van de Berg R, Wuyts F, et al. Presby-vestibulopathy: diagnostic criteria consensus document of the classification committee of the Bárány Society [J]. J Vestib Res, 2019, 29 (4): 161-170.
- [4] 张琦, 冷辉. 益肾活血通窍法对耳源性眩晕缓解期椭圆囊功能异常患者影响临床研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21 (9): 181-184.

- Zhang Q, Leng H. Clinical study on the effect of therapy of tonifying kidney, activating blood and opening orifice on patients with abnormal utriculus function during catabasis of aural vertigo [J]. *J Liaoning Univ Trad Chin Med*, 2019, 21 (9): 181 - 184.
- [5] 张琦. 益肾活血通窍法对耳源性眩晕缓解期耳石器异常患者影响的临床研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
- Zhang Q. Clinical study on the effect of Yishen Huoxue Tongqiao method on patients with otolith abnormalities during the relief period of otogenic vertigo [D]. Shenyang: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2018.
- [6] 符燕, 吴薇, 万毅刚, 等. 大黄蛰虫丸调控 ROS 介导的 PI3K/Akt/FoxO4 信号通路改善大鼠肝脏衰老的作用和机制 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48 (11): 3014 - 3021.
- Fu Y, Wu W, Wang YG, et al. Effect and mechanism of Dahuang Zhechong Pills in improving liver aging in rats by regulating ROS - mediated PI3K/Akt/FoxO4 signaling pathway [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2023, 48 (11): 3014 - 3021.
- [7] Choi JK, Carreras I, Aytan N, et al. The effects of aging, housing and ibuprofen treatment on brain neurochemistry in a triple transgene Alzheimer's disease mouse model using magnetic resonance spectroscopy and imaging [J]. *Brain Res*, 2014, 1590: 85 - 96.
- [8] 李红波, 王小琴, 熊飞, 等. 六味地黄丸对 D-半乳糖致衰老大鼠抗氧化功能影响的实验研究 [J]. *中国中医药科技*, 2019, 26 (1): 31 - 33.
- Li H B, Wang XQ, Xiong F, et al. Effect of Liuwei Dihuang Pill on antioxidative action in aging rats induced by D - galactose [J]. *Chin J Trad Med Sci Technol*, 2019, 26 (1): 31 - 33.
- [9] Ossenkopp KP, Prkacin A, Hargreaves EL. Sodium Arsanilate - induced vestibular dysfunction in rats; effects on open - field behavior and spontaneous activity in the automated digiscan monitoring system [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1990, 36 (4): 875 - 881.
- [10] Petrosini L. The effect of ethanol on early manifestations of recovery from vestibular lesion [J]. *Behav Brain Res*, 1982, 6 (4): 303 - 312.
- [11] Paplou V, Schubert N, Pyott SJ. Age - related changes in the cochlea and vestibule: shared patterns and processes [J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 680856.
- [12] Ross MD, Peacor D, Johnsson LG, et al. Observations on normal and degenerating human otoconia [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1976, 85 (3 pt 1): 310 - 326.
- [13] 崔世磊. 老年性头晕、眩晕和平衡障碍的诊治 [J]. *慢性病学杂志*, 2017, 18 (10): 1078 - 1082.
- Cui SL. Diagnosis and treatment of senile dizziness, vertigo and balance disorder [J]. *Chronic Pathematol J*, 2017, 18 (10): 1078 - 1082.
- [14] 冷辉. 治眩心悟名老中医马智教授治疗眩晕经验 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 10 - 11.
- Leng H. Experience of professor Ma Zhi, a renowned Traditional Chinese Medicine practitioner, in treating dizziness [M]. Bei Jing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2017: 10 - 11.
- [15] 杜政德, 宋青玲, 韩曙光, 等. D-半乳糖诱导的小鼠耳蜗带状突触损伤 [J]. *中华耳科学杂志*, 2019, 17 (2): 154 - 158.
- Du ZD, Song QL, Han SG, et al. Cochlear ribbon synapses damage induced by D - galactose [J]. *Chin J Otol*, 2019, 17 (2): 154 - 158.
- [16] 杨一萌. 基于 PI3K/AKT/mTOR 信号通路探讨花青素抵抗衰老的作用 [D]. 吉林: 吉林大学, 2022.
- Yang YM. Exploring the anti - aging effect of anthocyanins based on the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [D]. Jilin: Jilin University, 2022.
- [17] 刘俊杰, 伍大洋, 徐军, 等. 叶酸、维生素 B6 对年龄相关性黄斑变性患者血清同型半胱氨酸水平及氧化应激状态的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41 (4): 723 - 726.
- Liu JJ, Wu DY, Xu J, et al. The effects of folic acid and vitamin B6 on serum homocysteine levels and oxidative stress status in age - related macular degeneration patients [J]. *Chin J Gerontol*, 2021, 41 (4): 723 - 726.