

引用:孙朝辉,李雁丹,李钦,解海雪,魏淑芳.痰瘀互结型动脉粥样硬化大鼠病证结合模型的建立与评估[J].中医导报,2025,31(2):30-34,40.

# 痰瘀互结型动脉粥样硬化大鼠病证结合模型的建立与评估\*

孙朝辉<sup>1</sup>,李雁丹<sup>2</sup>,李钦<sup>3</sup>,解海雪<sup>1</sup>,魏淑芳<sup>1</sup>

(1.云南中医药大学第一附属医院,云南 昆明 650021;

2.云南省中医中药研究院,云南 昆明 650021;

3.云南中医药大学,云南 昆明 650500)

[摘要] 目的:探究痰瘀互结型动脉粥样硬化大鼠模型的构建方法,考察其可行性并对该模型进行评价,为进一步实验研究奠定基础。方法:选择SD大鼠,采用高脂饲料喂养+一次性腹腔注射维生素D<sub>3</sub>(60万IU/kg)构建痰瘀互结型动脉粥样硬化大鼠模型,并通过证候评价、病理学观察及生化指标检测,对痰瘀互结型动脉粥样硬化大鼠模型的建立进行评价。结果:模型组大鼠实验后证候总积分高于实验前( $P<0.05$ ),且模型组大鼠实验后证候总积分高于空白组( $P<0.05$ );模型组大鼠血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、纤维蛋白原(FIB)、血小板聚集率、血浆黏度、全血黏度(3/s、30/s、50/s、100/s、180/s)、红细胞刚性指数及聚集指数均高于空白组;模型组大鼠高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、凝血酶原时间(PT)、国际标准化比值(INR)、活化部分凝血活酶时间(APTT)及凝血酶时间(TT)均低于空白组( $P<0.05$ )。模型组大鼠胸主动脉中层厚度高于空白组( $P<0.05$ )。HE染色和油红O染色显示模型组大鼠有明显动脉粥样硬化的病理改变。结论:该痰瘀互结型动脉粥样硬化病证结合模型符合痰瘀互结证候的变化特点及动脉硬化病理、生理表现特点,与人类动脉硬化的表现特点具有相似性,造模方法可行。

[关键词] 动脉粥样硬化;痰瘀互结证;病证结合模型;大鼠

[中图分类号] R256.22 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)02-0030-05

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.02.006

## Establishment and Evaluation of Disease and Syndrome Combined Model of Phlegm-Blood Stasis Interjunction Atherosclerosis in Rats

SUN Zaohui<sup>1</sup>, LI Yandan<sup>2</sup>, LI Qin<sup>3</sup>, XIE Haixue<sup>1</sup>, WEI Shufang<sup>1</sup>

(1.The First Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan

650021, China; 2.Yunnan Academy of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650021, China;

3.Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] Objective: To explore the construction method of a rat model of atherosclerosis with phlegm-blood stasis, assess its feasibility, and provide an initial evaluation of the model, laying the groundwork for further experimental research. Methods: SD rats were selected and a model of phlegm-blood stasis intertwined atherosclerosis was established by feeding them with a high-fat diet and injecting of vitamin D<sub>3</sub> (600 000 IU/kg) in a single dose. The establishment of the sphlegm-blood stasis intertwined atherosclerosis rat model was initially evaluated through symptom evaluation, pathological observation, and biochemical index detection. Results: In the model group rats, the total score of syndrome after the experiment was higher than before ( $P<0.05$ ), and the model group showed higher total score of syndrome than blank group after the experiment ( $P<0.05$ ). The

\*基金项目:云南省科技厅科技计划项目(202101AZ070001-324);云南中医药大学第一附属医院“卓越青年人才计划”项目[云中附党字(2021)5号];云南中医药大学校园联合基金项目-重点项目(XYLH202203);云南中医药大学基础医学院、云南省中西医结合慢病防治重点实验室(2019DG016);云南中医药大学第一附属医院、云南省中医药治未病工程研究中心(云发改高技[2023]992号)

通信作者:李雁丹,女,主治医师,研究方向为中医内科

model group showed higher TG, TC, LDL-C, FIB, platelet aggregation rate, plasma viscosity, whole blood viscosity (3/s, 30/s, 50/s, 100/s, 180/s), red blood cell rigidity index, and aggregation index than blank group, while lower HDL-C, PT, INR, APTT, and TT than blank group ( $P<0.05$ ). The model group showed higher thickness of the middle layer of the thoracic aorta than that blank group ( $P<0.05$ ). According to HE staining and oil red O staining in pathological analysis, the model group showed obvious atherosclerotic pathological changes. Conclusion: This phlegm-blood stasis type atherosclerosis syndrome model combining Chinese medicine syndrome and Western medicine pathology meets the changes in the phlegm-blood stasis syndrome and the pathological and physiological characteristics of atherosclerosis, and it is similar to the expression characteristics of human atherosclerosis. The modeling method is feasible.

[Keywords] atherosclerosis; phlegm-blood stasis syndrome; model of combination of disease and syndrome; rat

心脑血管疾病已经成为威胁人类健康的重要原因。心脑血管疾病的基础病理是动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)。近年来,中医药在该领域的应用与研究也在不断深入。病证结合是中医中经典的诊疗思路与方法。因此,中医药科研中病证结合动物模型也得到广泛的应用。但是在科研过程中,病证结合动物模型目前仍存在模型种类较少、缺乏统一评价标准、造模方法差异大等问题。中医药干预动脉粥样硬化研究过程中,同样缺乏建立病证结合动物模型的相关参考。本实验将通过评估和分析大鼠模型的具体表现、生化和病理客观指标,建立与人类疾病发病和表现相类似的痰瘀互结型AS大鼠模型,探索AS病证结合大鼠模型的构建方法和参考标准,旨在为中医药应用于该领域疾病的实验研究提供一定的条件和理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 40只SPF级SD雄性大鼠,8~12周龄,体质量( $155.16\pm 10.00$ )g,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0010。动物质量合格证号:20230423。动物实验设施许可证编号:SYXK(滇)K2022-0011。大鼠饲养于云南中医药大学实验动物中心实验室,饲养室温度 $20\sim 26\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 $50\%\sim 70\%$ ,5只一笼,12 h明暗交替,通风良好,自由饮水。本实验经过云南省中医医院/云南中医药大学第一附属医院伦理委员会审核(申2021-054)。

**1.2 饲料配方** 复合型高脂饲料:基础饲料82.3%,胆固醇2.0%,胆酸钠0.5%,猪油10.0%,丙硫氧嘧啶0.2%,白糖5.0%。饲料由云南中医药大学动物实验中心制作提供,保存温度为 $2\sim 6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

普通饲料:由云南中医药大学实验动物中心制作提供。配方:玉米粉53%,豆饼粉24%,麦麸16%,鱼粉5%,骨粉1%,食盐1%。所有饲料均进行高温消毒与辐射照射处理。

**1.3 主要试剂** 生理盐水(山东齐都药业有限公司,批号:220712);多聚甲醛(上海浦予工业科技有限公司,批号:220724);水合氯醛(成都市科隆化学有限公司,批号:20221109);PBS粉末(北京索莱宝科技有限公司,批号:210823);维生素D<sub>3</sub>(VD<sub>3</sub>)注射液(哈尔滨三马兽药业有限公司,批号:20220611)。

**1.4 主要仪器** EG1160型石蜡包埋机、BM-2135型石蜡切片机、CX41型光学显微镜均购自日本奥林巴斯公司;STAGO-STA Compact MAX型全自动血凝仪(法国STAGO公司);ROCHE COBAS 8000 c 701型全自动生化分析系统[瑞士罗氏诊断产品(上海)有限公司];JEM-1220型透射电镜(日本电子有限公司);HPIAS-1000型高清晰度彩色病理图文分析系统, LBY-N6 Compact型全自动血液流变仪均购自北京普利生仪器有限公司。

**1.5 实验方法** 40只SD大鼠,适应性喂养1周后随机分为空白组(20只)、模型组(20只)。模型组大鼠一次性腹腔注射VD<sub>3</sub>(60万IU/kg)后予以高脂饲料喂养8周;空白组大鼠一次性腹腔注射等剂量生理盐水后予普通饲料喂养8周。

**1.5.1 大鼠一般行为学及表征** 参照《证候类中药新药临床研究技术指导原则》(2018版)制定证候积分评定标准。(见表1)记录大鼠实验前后日摄食量、体质量、毛色、舌色、精神状态、爪色、耳色、大小便分泌物等情况,并根据变化程度评定证候积分。

**1.5.2 血液流变、凝血功能及血脂** 实验第8周结束后,各组

表1 痰瘀互结型AS模型大鼠的证候积分评定量表

| 证候项目 | 评分标准  |
|------|---|
| 精神状态 | 0分:活动灵活,眼有神,反应迅速;1分:精神差,少动,反应变慢;2分:逃避,精神萎靡,攻击行为明显减少   |
| 毛色   | 0分:白色,细密有光泽,柔顺浓密;1分:异常,白中夹杂部分黄毛,稍杂乱,欠光泽;2分:满目黄色,毛躁,无光泽  |
| 舌色   | 0分:舌质红,舌底微青,舌静脉充盈度不超过主干长度的3/4;1分:舌质红而稍暗,舌底偏紫暗或舌静脉充盈度不超过主干长度的3/4;2分:舌暗红明显,舌底色紫暗且舌静脉充盈度超过主干长度的3/4 |
| 爪色   | 0分:粉红色;1分:深红色;2分:暗红或紫暗  |
| 耳色   | 0分:无瘀点,血管数量适中;1分:有1~2个瘀点,血管数量略有增加;2分:有3~4个瘀点,血管数量略有增加   |
| 粪便   | 0分:大便成形,粪质柔软;1分:粪便稀溏,部分不成形;2分:粪便稀溏,完全不成形  |
| 摄食量  | 0分:日进食量较实验前增加20%以下;1分:日进食量增加20%~40%;2分:日进食量增加40%以上  |
| 体质量  | 0分:体质量较实验前增加20%以下;1分:体质量较实验前增加20%~30%;2分:体质量较实验前增加30%以上   |

大鼠禁食不禁水12 h,采集表征数据后,使用10%水合氯醛腹腔注射予以麻醉。打开大鼠腹腔,暴露腹主动脉,采集腹主动脉血液。在4℃条件下静置1 h,3 000 r/min(离心半径为16 cm)离心10 min,分离血清置于EP管中,置于-20℃冰箱中保存备检。(1)取经肝素钠抗凝血,测血浆黏度、全血黏度(3.0/s、30/s、50/s、100/s、180/s)、红细胞刚性指数、聚集指数;(2)取动脉血,采用全自动生化分析仪测定血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量;(3)全自动凝血仪测定凝血功能,包括凝血酶原时间(PT)、国际标准化比值(INR)、纤维蛋白原(FIB)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)及血小板聚集率。

1.5.3 胸主动脉HE染色 处死大鼠后分离大鼠主动脉、胸主动脉,剥离外膜,保留好主动脉弓分支,包括头臂干动脉、左颈总动脉和左锁骨下动脉。置于4%多聚甲醛中固定,石蜡切片脱蜡水化,置于不同浓度乙醇中浸泡水化,伊红染色3 min,蒸馏水洗净擦干后,苏木素染色8 min,蒸馏水洗净。切片再经过脱水透明,中性树脂封片。光镜下观察切片各结构特点并拍片,每组大鼠胸主动脉同一部位取材,连续切片3张,Image-Pro Plus 5.0图像分析系统测量斑块及中膜厚度,每张切片随机选取5个高倍视野,取平均值。

1.5.4 胸主动脉油红O染色 将主动脉切片标本在4%多聚甲醛中室温固定30 min后,切片置入70%乙醇溶液稍洗5 s,置入油红染液中5~10 min,取出再置入70%乙醇溶液洗掉多余染液,流水冲洗30 s。切片再入苏木染液2 min后流水清洗,甘油明胶封片。使用Image Pro Plus 6.0软件观察血管壁脂肪沉积情况及血管壁损伤面积。

1.6 统计学方法 采用SPSS 29.0统计软件进行统计分析,计量资料符合正态分布且方差齐,以“均数±标准差”( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间比较采用成组 $t$ 检验,组内比较采用配对 $t$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般行为学及表征观察 两组大鼠实验前证候总积分比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );模型组大鼠实验后证候总积分高于实验前( $P<0.05$ ),且模型组大鼠实验后证候总积分高于空白组( $P<0.05$ )。(见表2)实验后模型组大鼠在体质量、摄食量、精神状态、毛色、舌色、爪色、耳色及粪便等方面有明显变化;空白组大鼠以上行为学、表征均无明显变化,属于正常状态。模型组大鼠活动量方面表现出行动迟缓,蜷缩少动,精神较萎靡,整体表现为生命状态欠活跃;同时模型组大鼠体质量及摄食量高于空白组;模型组大鼠舌色紫红,爪色颜色近乎暗红,与正常大鼠有明显区别;模型组大鼠耳色由白粉色变为红色并带有斑点,耳部血管分布区域增加,粪便多稀薄。说明模型大鼠表征状态与一般行为学出现了明显改变。

此外,模型组在造模时出现6只大鼠死亡,空白组造模时有5只大鼠死亡,解剖死亡大鼠,考虑感染导致了死亡。

表 2 两组大鼠证候总积分比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,分)

| 组别       | <i>n</i> | 实验前       | 实验后       | <i>t</i> | <i>P</i> |
|----------|----------|-----------|-----------|----------|----------|
| 空白组      | 15       | 1.22±0.44 | 2.34±1.79 | 0.071    | 0.760    |
| 模型组      | 14       | 1.35±0.50 | 6.43±2.49 | 6.217    | 0.000    |
| <i>t</i> |          | 0.921     | 5.255     |          |          |
| <i>P</i> |          | 0.210     | 0.000     |          |          |

2.2 两组大鼠血脂比较 模型组大鼠血清TG、TC及LDL-C水平高于空白组( $P<0.05$ ),血清HDL-C水平低于空白组( $P<0.05$ )。(见表3)

表 3 两组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,mmol/L)

| 组别       | <i>n</i> | TG        | TC         | LDL-C     | HDL-C     |
|----------|----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| 空白组      | 15       | 0.95±0.43 | 1.98±0.76  | 1.44±0.63 | 1.20±0.32 |
| 模型组      | 14       | 3.12±0.62 | 14.22±4.76 | 9.43±2.66 | 0.67±0.21 |
| <i>t</i> |          | 3.204     | 5.098      | 6.923     | 1.021     |
| <i>P</i> |          | 0.002     | 0.000      | 0.000     | 0.043     |

2.3 两组大鼠凝血功能比较 模型组大鼠PT、INR、APTT及TT低于空白组( $P<0.05$ ),FIB含量高于空白组( $P<0.05$ )。(见表4)

表 4 两组大鼠凝血功能比较比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别       | <i>n</i> | PT/s       | INR       | FIB/(g/L) | APTT/s     | TT/s       |
|----------|----------|------------|-----------|-----------|------------|------------|
| 空白组      | 15       | 16.67±2.59 | 1.86±0.96 | 1.59±0.61 | 36.40±5.79 | 58.21±6.14 |
| 模型组      | 14       | 9.29±3.40  | 0.86±0.39 | 1.92±0.35 | 27.79±4.21 | 41.56±3.97 |
| <i>t</i> |          | 2.204      | 2.554     | 1.205     | 1.213      | 1.010      |
| <i>P</i> |          | 0.032      | 0.017     | 0.037     | 0.028      | 0.032      |

2.4 两组大鼠血液流变学比较

2.4.1 两组大鼠血浆黏度、全血黏度比较 模型组大鼠血浆黏度、全血黏度(3/s、30/s、50/s、100/s、180/s)均高于空白组( $P<0.05$ )。(见表5)

2.4.2 两组大鼠红细胞刚性指数、红细胞聚集指数、血小板聚集率比较 模型组大鼠红细胞刚性指数、红细胞聚集指数及血小板聚集率(1 min、5 min)均高于空白组( $P<0.05$ )。(见表6)

表 6 两组大鼠红细胞刚性指数、红细胞聚集指数及血小板聚集率比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别       | <i>n</i> | 红细胞刚性指数   | 红细胞聚集指数    | 血小板聚集率(1 min) | 血小板聚集率(5 min) |
|----------|----------|-----------|------------|---------------|---------------|
| 空白组      | 15       | 0.75±1.21 | 11.85±2.51 | 20.17±4.15    | 45.71±5.97    |
| 模型组      | 14       | 0.93±1.50 | 15.67±1.86 | 30.78±3.47    | 52.13±8.12    |
| <i>t</i> |          | 4.202     | 3.316      | 1.278         | 2.835         |
| <i>P</i> |          | 0.045     | 0.025      | 0.013         | 0.010         |

2.5 病理结果

2.5.1 HE染色 (1)空白组:低倍镜下,主动脉血管结构清

表 5 两组大鼠血浆黏度、全血黏度比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别       | <i>n</i> | 血浆黏度      | 全血黏度(3/s)  | 全血黏度(30/s) | 全血黏度(50/s) | 全血黏度(100/s) | 全血黏度(180/s) |
|----------|----------|-----------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| 空白组      | 15       | 0.76±0.21 | 18.77±3.11 | 8.41±1.25  | 7.93±1.09  | 5.23±2.12   | 6.10±1.08   |
| 模型组      | 14       | 0.93±0.13 | 23.38±4.54 | 11.29±1.92 | 10.15±2.15 | 7.41±1.25   | 7.47±1.74   |
| <i>t</i> |          | 3.204     | 2.235      | 3.281      | 4.015      | 4.235       | 5.235       |
| <i>P</i> |          | 0.002     | 0.025      | 0.035      | 0.032      | 0.034       | 0.041       |

晰,内膜光滑,腔内可见少量红细胞,外膜外有脂肪组织包被。高倍镜下,内弹性膜(红色箭头)和中膜的弹性纤维清晰可见;中膜完整,弹性膜间隔均匀,无脂质和纤维成分在动脉中膜聚集,平滑肌(黑色箭头)细胞分布均匀,无坏死、空泡。(2)模型组:低倍镜下,动脉血管结构较清晰,管腔变小,内膜明显增厚且部分内膜脱落。高倍镜下,中膜大量平滑肌细胞增生紊乱,平滑肌和弹性纤维发生断裂,有泡沫细胞形成;内膜增生、断裂,脂质空泡和片状坏死物形成了粥样物质(黑色箭头)。内膜和中膜上均出现了大量斑块和炎症细胞(红色箭头)。(见图1)

模型组大鼠胸主动脉中膜厚度高于空白组( $P<0.05$ )。(见表7)

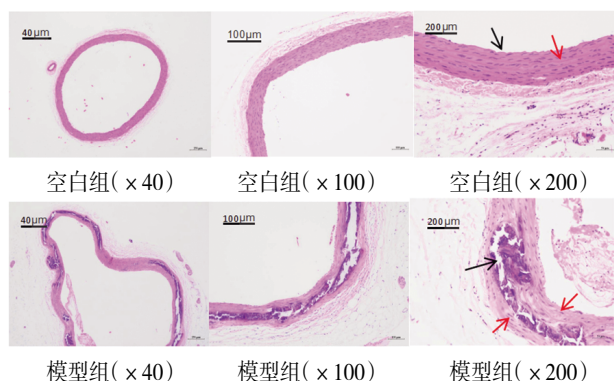


图1 各组大鼠主动脉切片 HE 染色图

表7 两组大鼠胸主动脉中膜厚度比较 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{m}$ )

| 组别  | n  | 胸主动脉中膜厚度     |
|-----|----|--------------|
| 空白组 | 15 | 83.68±9.54   |
| 模型组 | 14 | 112.56±11.59 |
| t   |    | 5.890        |
| P   |    | 0.000        |

2.5.2 油红O染色 空白组主动脉内膜下油红O染色红色着色区明显较少,模型组主动脉内膜下红色着色区则显著增加。(见图2)

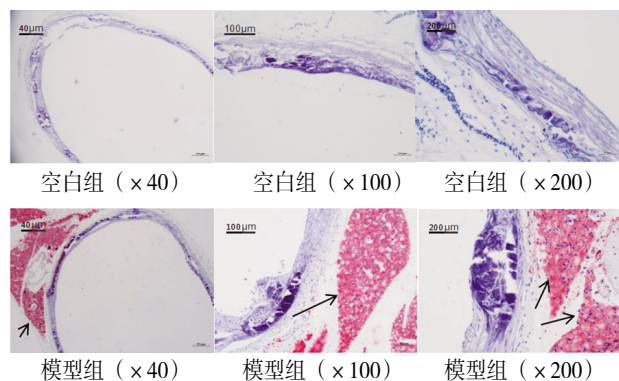


图2 各组大鼠主动脉切片油红O染色图

### 3 讨论

AS以动脉粥样硬化斑块形成为特征,是心脑血管疾病的病理基础。据相关统计,AS导致的心脑血管疾病患者每年约占全球死亡人数的1/3以上,严重危害着人类生命健康<sup>[1-2]</sup>。

中医药在防治动脉粥样硬化的过程中一直发挥着重要作用。中医注重整体观,临证坚持病证结合,将辨证论治与辨

病结合,疗效显著。但中医临证治病灵活多变,其具体分子机制则有待深入研究探索。在实验研究中坚持中医的整体观,坚持病证结合的原则,有利于阐释传统医学与现代生命科学领域的共同内涵。因此,病证结合中医动物模型的精准建立成为了中医药分子机制研究过程中的必备条件。目前“病证结合”模型的建模形式,绝大多数是结合西医的病与中医的证,系统模拟,综合评估。这种建模的优势在于既能够利用西医中明确的病理生化微观性指标来评价模型,又能够体现出中医整体辨证的宏观思想。这样才更有利于从宏观与微观两个方面来精准探讨疾病的客观病理变化,以及这种变化在中医特定证型中的表现。这种评估病证结合模型的形式方法也能更加贴切模拟临床诊治实际<sup>[3-4]</sup>。

AS归属于中医学“胸痹”“脉痹”“真心痛”“中风”等范畴<sup>[5]</sup>。其病因多为外邪入侵、饮食失调、情志不节、劳倦久病等。古今不少医家认为“痰”“瘀”“毒”“浊”是其主要病机,属于本虚标实。本虚主要与肝、心、脾相关,标实主要与痰瘀相关<sup>[6]</sup>。随着AS中医理论研究的不断深入,痰瘀致病理论得到中西医结合研究者的重视并逐步取得了共识<sup>[7]</sup>。如吕俊芳<sup>[8]</sup>将AS的“痰”致病的病理总结为血糖升高、血脂异常、胰岛素抵抗、血液流变学异常、内皮细胞功能异常、凝血功能异常、部分细胞因子的异常等。在现代医学中,中医“瘀”的病理可表现为血管内外多种客观成分和运转形式的改变,如血小板黏附强度、聚集程度及血栓形成的风险升高,以及血液流变学改变、纤维斑块形成、平滑肌细胞增殖、免疫功能调节失常等<sup>[9]</sup>。“痰瘀”理论指导下的多种化痰活血方可改善“痰瘀”的多种病理因子,表明“痰瘀”的病理与客观生化病理指标相关。如刘婷等<sup>[10]</sup>研究表明半夏白术天麻汤与丹参饮加减能改善冠心病合并高脂血症(痰瘀互阻证)患者血脂水平;王朝霞等<sup>[11]</sup>研究表明祛痰化痰胶囊可降低痰瘀阻络型脑梗死患者血清过氧化物脂质(LPO)水平,提高超氧化物歧化酶(SOD)活性。

本研究采用高脂饲料喂养联合VD<sub>3</sub>注射模拟痰瘀互结型AS大鼠模型。实验选择的表型客观指标参考了中医痰瘀证的典型证候,同时也选择了已经被其他工作者验证过与痰瘀基本病理相关的客观生化指标来评估。结果显示,模型组大鼠实验后证候总积分高于实验前( $P<0.05$ ),且模型组大鼠实验后证候总积分高于空白组( $P<0.05$ )。模型组大鼠体质量及进食量增加、行动迟缓、蜷缩少动,精神较萎靡,舌色发紫红,爪色紫红,耳色粉红带有斑点,耳部血管分布区域增加,粪便多稀溏。这些表现符合痰瘀互结的证候表现。模型组大鼠TG、TC、LDL-C、FIB、血小板聚集率、血浆黏度及全血黏度(3s、30s、50s、100s、180s)、红细胞刚性指数、红细胞聚集指数高于空白组;模型组大鼠HDL-C、PT、INR、APTT及TT低于空白组( $P<0.05$ )。HE染色结果显示模型组大鼠主动脉管壁中粥样硬化斑块形成,管壁结构紊乱,且模型组大鼠胸主动脉中层厚度高于空白组( $P<0.05$ )。油红O染色结果显示模型组大鼠主动脉内膜下存在脂肪沉积。综上所述,本研究中大鼠动脉粥样硬化模型已经成功建立。

据有关统计,痰瘀互结证在AS中发病率最高<sup>[12-13]</sup>。过食肥甘厚腻致脾虚,痰湿内生;脾胃虚衰可致津液代谢失常,聚而

为痰。痰湿日久阻滞血脉,血行不畅,瘀阻脉络从而产生瘀血<sup>[14-15]</sup>。本研究采用高脂饲料喂养大鼠,模拟过食肥甘厚腻,致其痰湿内生。同时腹腔注射VD<sub>3</sub>能促进血管内皮损伤,改变血管内皮功能,改变血液流变学和凝血功能等,导致血管内膜损伤、增厚,促进硬化斑块形成。内皮细胞损伤和血脂异常在AS发病过程中,发挥了重要作用<sup>[16]</sup>。血脂异常能导致内皮损伤<sup>[17-19]</sup>,而血管内皮细胞损伤又可促成脂质沉积和泡沫细胞的形成,促进病情进展<sup>[20-22]</sup>。高脂饮食及腹腔注射VD<sub>3</sub>模拟痰瘀致病基本要素,理论可行。陈丽娟等<sup>[23]</sup>研究表明,高脂饲料喂养联合腹腔注射VD<sub>3</sub>的方法能复制动脉粥样硬化痰瘀互结证SD大鼠模型,且LDL、HDL分布异常;陈洁等<sup>[24]</sup>研究表明,高脂饮食结合VD<sub>3</sub>腹腔注射联合颈动脉球囊损伤的方法可以建立AS痰瘀互结证大鼠模型,且痰瘀同治方药可以改善AS和炎症反应,但其造模方法复杂。张方申等<sup>[25]</sup>采用VD<sub>3</sub>大剂量腹腔注射联合高脂乳剂长期灌胃复制痰瘀互结证AS大鼠模型,结果显示痰瘀互结证AS大鼠模型视网膜及肠系膜微血管数量减少、形态异常,血供不足,血液流速降低,其痰瘀互结的表征较明显。虽然高脂饮食联合腹腔内注射大剂量VD<sub>3</sub>的造模方法得到了广泛应用,但是总结其评估方法和标准的文献仍较少。本实验结果可作为参考。

综上所述,高脂饮食联合VD<sub>3</sub>腹腔注射建立痰瘀互结型AS大鼠模型与人类的疾病特征相似,并且具有周期短及稳定性、可重复性好的优点。建立符合人类疾病特点的病证结合动物模型,是中医药现代研究及促进中医药不断发展的重要条件。目前AS病证结合动物模型的造模途径很多,但是仍缺少统一的参考标准和评估方法<sup>[26]</sup>。无论是建立何种证型的AS动物模型,都必须符合AS的病证特点。本研究通过系统评估,证明高脂饮食联合VD<sub>3</sub>腹腔注射建立的痰瘀互结型AS大鼠模型可以作为实验研究的模型选择。

## 参考文献

- [1] HU P W, DHARMAYAT K I, STEVENS C A T, et al. Prevalence of familial hypercholesterolemia among the general population and patients with atherosclerotic cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis[J]. *Circulation*, 2020, 141(22): 1742-1759.
- [2] ISMAIEL A, DUMITRAȘCU D L. Cardiovascular risk in fatty liver disease: The liver-heart axis-literature review[J]. *Front Med*, 2019, 6: 202.
- [3] 王少贤,白明华,陈家旭,等.关于建立中医证候模型评价量表的思考[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(3): 531-534.
- [4] 朱龙.浅议“以方测证”法在中医动物模型研究中的运用[J]. *甘肃中医*, 2009, 22(12): 18-19.
- [5] 尤心怡,王文凤,徐霞,等.补阳还五汤治疗动脉粥样硬化的物质基础及作用机制研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(10): 1575-1581.
- [6] 梁丽喆,胡镜清,李国信.通阳化浊方与四妙勇安汤干预动脉粥样硬化模型家兔的粪便代谢组学比较研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(8): 2652-2662.
- [7] 江勉君,史忠亮,古惠文,等.基于痰瘀理论探讨动脉粥样硬化的发病机制[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(11): 2098-2100.
- [8] 吕俊芳.动脉粥样硬化与“痰瘀”病理[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2008, 10(1): 140-141.
- [9] 任建勋,刘建勋,林成仁,等.冠心病不稳定性心绞痛患者气滞血瘀证和气虚血瘀证的生物学基础比较分析[J]. *中国中西医结合杂志*, 2010, 30(4): 352-356.
- [10] 刘婷,肖振东,李培培.理气化痰祛瘀法治疗冠心病合并高脂血症(痰瘀互阻证)45例[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(8): 221-225.
- [11] 王朝霞,方习红,王鹏.祛痰化痰瘀治疗痰瘀阻络型脑梗死急性期100例[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2009, 7(4): 408-411.
- [12] 张艳,于睿,刘文华,等.心脑血管粥样硬化中医证型与易患因素分析研究[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(3): 699-700.
- [13] 孙璐,黄水清.动脉粥样硬化动物模型与中医证候相关性研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2009, 18(3): 337-339.
- [14] 徐丹,杨关林.从痰瘀方面浅谈冠心病病因病机[J]. *中外健康文摘*, 2009, 6(25): 256-257.
- [15] 支艳,马建伟,魏汉林,等.试论中医痰瘀相关理论[J]. *中医临床研究*, 2011, 3(2): 58-60.
- [16] WILLIAMS J K, SUKHOVA G K, HERRINGTON D M, et al. Pravastatin has cholesterol-lowering independent effects on the artery wall of atherosclerotic monkeys[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1998, 31(3): 684-691.
- [17] 孔玉娟.瑞舒伐他汀强化降脂对缺血性脑卒中血脂及颈动脉粥样硬化斑块的影响[J]. *中国现代药物应用*, 2015, 9(8): 105-106.
- [18] JONES BUIE J N, GOODWIN A J, COOK J A, et al. The role of miRNAs in cardiovascular disease risk factors[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 254: 271-281.
- [19] CHATZIZISIS Y S, COSKUN A U, JONAS M, et al. Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: Molecular, cellular, and vascular behavior[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(25): 2379-2393.
- [20] DIMMELER S, ZEIHNER AM. Endothelial cell apoptosis in angiogenesis and vessel regression[J]. *Circ Res*, 2000, 87(6): 434-439.
- [21] HAUNSTETTER A, IZUMO S. Apoptosis: Basic mechanisms and implications for cardiovascular disease [J]. *Circ Res*, 1998, 82(11): 1111-1129.
- [22] 艾诗媛,张英.姜黄素灌胃对动脉粥样硬化大鼠血管内皮损伤的逆转作用及其机制[J]. *山东医药*, 2018, 58(40): 24-27.
- [23] 陈丽娟,杜莹,贾连群,等.动脉粥样硬化痰瘀互结证大鼠脂蛋白亚类分布特征研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018, 20(8): 159-162.

(下转第40页)



生何首乌、制何首乌均能显著降低线虫体内荧光强度。线虫体内的荧光强度由其肠道内的衰老色素——脂褐素决定。荧光强度越强,脂褐素含量越高,线虫衰老越明显。结果证明生何首乌、制何首乌甲醇提取物具有抗衰老作用。生品何首乌降低脂褐素能力稍强于两种制何首乌,北京炮制品抗衰老能力稍强于《中国药典》品。这与前期抗氧化能力结果一致,为进一步挖掘北京特色炮制何首乌提供了依据。质谱分析结果结合文献[25]分析表明,生何首乌、制何首乌甲醇提取物发挥抗衰老作用的成分可能为大黄素、大黄素甲醚、儿茶素、二苯乙烯苷、没食子酸等。本研究可为后续何首乌不同炮制品甲醇提取物抗衰老作用机制研究奠定基础。

# 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020:183-184.
- [2] 黄孟秋,孙连娜,董志颖,等.产地加工炮制一体化与传统何首乌饮片化学成分的比较研究[J].中草药,2022,53(17):5293-5304.
- [3] 王硕,钟凌云,王卓,等.何首乌的肝毒性分析及炮制减毒研究[J].中华中医药学刊,2023,41(2):231-237.
- [4] 北京市药品监督管理局.北京市中药饮片炮制规范[S].北京:化学工业出版社,2008.
- [5] 卢多逊.开宝本草:辑复本[M].尚志钧,辑校.合肥:安徽科学技术出版社,1998:335,336,367.
- [6] 张涛,张金莲,张青,等.何首乌炮制历史沿革及现代研究进展[J].中成药,2023,45(7):2308-2316.
- [7] 王卓,钟凌云,解杨,等.基于“生熟异用”何首乌的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J].中草药,2022,53(3):882-897.
- [8] PAPAEOENIOU N, CHONDROGIANNI N. Anti-aging and anti-aggregation properties of polyphenolic compounds in *C. elegans*[J]. Curr Pharm Des,2018,24(19):2107-2120.
- [9] DENZEL M S, LAPIERRE L R, MACK H I D. Emerging topics in *C. elegans* aging research: Transcriptional regulation, stress response and epigenetics[J]. Mech Ageing Dev,2019,177:4-21.
- [10] 高雅婷,陈旭,范潇晓,等.基于秀丽隐杆线虫模型的棉子糖抗衰老作用研究[J].药物评价研究,2024,47(2):339-344.
- [11] 李立英,刘晓笔,陈志松,等.基于多糖含量的滇黄精炮制工艺及抗衰老活性研究[J].中国现代中药,2023,25(12):2492-2498.
- [12] 陈旭,梁佳政,李志恒,等.水苏糖抗衰老活性及机制研究[J].中国现代中药,2023,25(10):2103-2108.
- [13] 朱敏,姚毅.何首乌炮制前后及其主要成分体外抗氧化活性研究[J].中国医院药学杂志,2018,38(20):2119-2123.
- [14] 郭忠会,贾志鑫,陈奎奎,等.基于UPLC-Q-TOF-MS分析何首乌提取物体内成分[J].中国中药杂志,2018,43(13):2796-2805.
- [15] 罗益远,刘娟秀,王锋,等.基于UPLC-Triple TOF-MS/MS技术分析何首乌代谢物积累的动态变化[J].中草药,2017,48(10):2105-2110.
- [16] 李妍怡,汪祺,杨建波,等.不同生长年限与采收季节对何首乌中14个成分含量的影响[J].中国现代中药,2023,25(8):1769-1775.
- [17] 罗益远,刘娟秀,刘训红,等.超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱分析不同加工何首乌中差异化学成分[J].分析测试学报,2017,36(1):73-79.
- [18] 周铭.基于LC-MS和化学计量学的何首乌鉴别及炮制水蒸液成分转移研究[D].北京:北京中医药大学,2022.
- [19] 王敏,王晶,杨娜,等.基于UPLC-Q-TOF-MS/MS代谢组学技术研究炮制前后何首乌化学成分变化[J].辽宁中医杂志,2022,49(2):149-153,224-225.
- [20] 靳宝芬,叶昊,王凤云,等.基于UPLC/Q-TOF MS法分析生何首乌药材的化学成分[J].广东药科大学学报,2020,36(4):473-478.
- [21] 罗益远,刘娟秀,刘训红,等.基于UPLC-Triple TOF MS/MS技术分析不同产地何首乌的差异化学成分[J].质谱学报,2017,38(6):678-689.
- [22] 王艳霓,邹宏,骆利平,等.基于UPLC-Q/TOF-MS法研究“建昌帮”纹何首乌主成分差异[J].中南药学,2022,20(9):2052-2058.
- [23] SENCHUK M M, DUES D J, VAN RAAMSDONK J M. Measuring oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*: Paraquat and juglone sensitivity assays[J]. Bio Protoc, 2017,7(1):e2086.
- [24] 林艳,肖蓉,吴萍,等.生/制何首乌中蒽醌部位UPLC指纹图谱和抗氧化活性研究[J].中华中医药杂志,2022,37(2):745-749.
- [25] 李学林,张帆,唐进法,等.何首乌炮制品有效成分与抗衰老功效的相关性研究[J].中国新药杂志,2018,27(9):1040-1046.

(收稿日期:2024-06-05 编辑:蒋凯彪)

## (上接第34页)

- [24] 陈洁,缪静,周鑫斌,等.大鼠动脉粥样硬化痰瘀互结病证结合模型的建立及方药干预研究[J].中国比较医学杂志,2015,25(9):22-27,87.
- [25] 张方申,彭欣,秦林,等.痰瘀互结型动脉粥样硬化大鼠视网膜和肠系膜微循环观察[J].微循环学杂志,2015,25(1):10-13,22,83.
- [26] 林丰夏,李亮,曾志聪,等.动脉粥样硬化动物模型研究进展与中医病证结合的造模思路探析[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(21):3338-3342.

(收稿日期:2024-07-01 编辑:蒋凯彪)