

刘校彤,吕光华,王巧稚,等. 血瘀证动物模型制备的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(3): 371-380.

Liu XT, Lyu GH, Wang QZ, et al. Research progress of blood stasis syndrome animal models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(3): 371-380.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.03.012

血瘀证动物模型制备的研究进展

刘校彤^{1,2}, 吕光华³, 王巧稚^{2*}, 王琼^{1,4*}

(1. 西南医科大学附属中医医院中葡中医药国际合作中心, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学基础医学院, 四川 泸州 646000; 3. 成都中医药大学民族医药学院, 成都 611137; 4. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193)

【摘要】 血瘀证作为中医学常见的证候之一,常夹杂其它证候出现。对其诊断和治疗的意义不言而喻。现代医学对血瘀证的研究逐渐增多,建立更可靠的血瘀证动物模型变得越来越重要。本文旨在综述近年来血瘀证模型的研究进展,为后续血瘀证模型制备提供参考。

【关键词】 血瘀证;动物模型;进展

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 03-0371-10

Research progress of blood stasis syndrome animal models

LIU Xiaotong^{1,2}, LYU Guanghua³, WANG Qiaozhi^{2*}, WANG Qiong^{1,4*}

(1. Sino-Portugal TCM International Cooperation Center, Affiliated TCM Hospital, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China. 2. School of Basic Medicine, Southwest Medical University, Luzhou 646000. 3. College of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 61113. 4. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

Corresponding author: WANG Qiong. E-mail: luyiwangqiong@163.com; WANG Qiaozhi. E-mail: 471495937@qq.com

【Abstract】 Blood stasis syndrome is one of the common syndromes in traditional Chinese medicine, and it often appears mixed with other syndromes. The diagnosis and treatment of this syndrome is significant in traditional medicine. With increasing investigation of the blood stasis syndrome in modern medicine, it is important to establish more reliable animal models of this syndrome. The purpose of this paper is to review the research progress using blood stasis syndrome animal models in recent years and to provide a reference for the future application and development of blood stasis syndrome models.

【Keywords】 blood stasis syndrome; animal model; progress

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

20 世纪 60 年代以来,陈可冀院士课题组在继承传统中医学的基础上,结合现代创新与发展,系统地研究了血瘀证的科学内涵与活血化瘀疗效机制^[1]。自此,现代医学对于活血化瘀与血瘀证的研究也就正式拉开了帷幕。传统中医上的血瘀证是指脉管内血行迟滞,或血溢脉外而停蓄体内所引起的证候。随着医学的进步和发展,现代医学主要着眼于血瘀证引起的血液流变学,生化以及组织形态

【基金项目】 国家自然科学基金(81773896),四川省科技厅国际科技创新合作/港澳台科技创新合作项目(2019YFH0023),泸州市高端人才引进项目(刘新民团队)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(81773896), Sichuan International Science and Technology Innovation Cooperation/Hong Kong, Macao and Taiwan Science and Technology Innovation Cooperation Project, Science & Technology Department of Sichuan province (2019YFH0023), the High - end Talents Recruitment Program (Liu Xinmin group) of Luzhou Municipal People's Government.

【作者简介】 刘校彤(1994—),男,硕士研究生,研究方向:基础医学。Email:773910097@qq.com

【通信作者】 王琼,女,博士,教授,研究员,博士生导师,研究方向:中药神经药理与航天医学。Email:luyiwangqiong@163.com; 王巧稚,女,副教授,研究员,硕士生导师,研究方向:基础医学。Email:471495937@qq.com。

* 共同通信作者

学方面的改变。血瘀证模型的制备,就是建立在传统中医理论和现代医学结合的基础之上。根据血瘀证不同的病因病机,血瘀证模型可以分成:气滞血瘀(qi-stagnancy and blood stasis)、气虚血瘀(qi-deficiency and blood stasis)、外伤血瘀(trauma and blood stasis)、血虚血瘀(blood-deficiency and blood stasis)、寒凝血瘀(cold and blood stasis)、阳虚血瘀(yang-deficiency and blood stasis)、阴虚血瘀(yin-deficiency and blood stasis)、痰浊血瘀(phlegm-turbid blood stasis)、热毒血瘀(heat-toxin and blood stasis)、慢性血瘀(chronic blood stasis)本文综述血瘀证模型及研究进展,为血瘀证模型相关科学研究作参考,为活血化瘀药物筛选提供可选模型建议。

1 血瘀证动物模型

1.1 气滞血瘀

气是构成人体和维持生命的基本物质,气为一切的生化本原。气与血都根源于肾中精气,滋生于脾胃化生的水谷精微和肺吸入的清气,故称为“气血同源”。气能生血,气能行血,气能摄血。血能养气,血能载气。气血共同为患,同盛同衰,相互转化。《素问·调经论》说“气血不和,百病乃变化而生”。气滞,则血行不畅,导致血瘀,出现血瘀证候。

(1) 单因素刺激模型

章正祥等^[2]通过对大鼠血液流速的动态监测,采用肾上腺素皮下注射的方法形成气滞血瘀状态,血流流速明显减慢。通过给实验动物注射肾上腺素来模拟人体情志的变化,影响气机造成气滞血瘀模型。

(2) 多因素刺激模型

廖婉等^[3]采用连续 7 d 对大鼠进行肌肉注射 10 mL/kg 的氢化可的松,联合皮下注射肾上腺素的方法成功复制气滞血瘀模型,通过对全血粘度(whole blood viscosity, WBV),血浆粘度(plasma viscosity, PV),红细胞聚集指数,血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)和血细胞压积(hematocrit, HCT)的检测,显示出醋莪术对气滞血瘀大鼠的改善效果。郑跃等^[4]采用不可预知的慢性长期刺激复制气滞血瘀证动物模型,具体包括:每隔 8 ~ 15 min 进行 1 次,每次 60 ~ 120 s 的对大鼠足底 25 ~ 35 V 的电击刺激;每隔 8 ~ 15 min 进行 1 次,每次 60 ~ 120 s 的频率为 5 ~ 15 KHz 的噪声刺激(等级为 3 级),持续 10 ~ 12 h;每隔 8 ~ 15 min 进行 1 次,每

次 60 ~ 120 s 的频率为 1 ~ 3 KHz 强度的闪烁光刺激,持续 10 ~ 12 h;进行每小时 1 次持续 4 min 的夹尾,每天 8 次;进行连续 21 d,每日 1 次 45°倾斜鼠笼 2 h。通过对 TNF- α 、TLR2 基因与蛋白的表达检测,显示出膈下逐瘀汤加减方对气滞血瘀大鼠的确切疗效。刘丹彤等^[5]采用夹尾、束缚后腿、食用油灌胃联合皮下肾上腺素注射复合造模,具体为:用贴有纱布的止血钳夹鼠尾,使动物保持激惹争斗状态,每周 1 次,每次 2 min;绷带束缚大鼠后肢使之行走困难,每周 1 次,每次 30 min;食用油(0.01 mL/g)灌胃,每周 1 次;每只大鼠 0.2 mL(1 g/L)肾上腺素皮下注射,每周 1 次。以上操作 1 周内交替进行。通过检测多巴胺(dopamine, DA)、去甲肾上腺素(noradrenaline, NE)的含量,显示气滞血瘀证的体内变化,提示模型复制成功。

1.2 气虚血瘀

气虚主要由于体内元气不足而引起的,元气不足导致气虚,使运血无力,血行变缓,从而引起血性不畅导致血瘀。从病因上思考,致气虚的因素有:(1)体虚致气虚;(2)生气之源减少;(3)正气消耗增加;(4)情志失调致气虚^[6]。将以上几点转化为造模因素则有:饥饿、力竭、惊恐、疲劳等因素。

(1) 单因素刺激模型

扈新刚等^[7]在“劳则耗气”的理论基础上,使用游泳力竭的方法造模,力竭的标准为:大鼠沉入水中 10 s 不能自行浮出水面。可见大鼠精神差、活动减少、体重下降、反应迟缓等表征,检测凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)出现缩短,血浆粘度升高。徐海蓉^[8]采用游泳力竭的方法造模,具体为将大鼠放入恒温水槽中游泳 14 d,每次持续时间为 50%的大鼠出现自然沉降。造模后,大鼠出现毛色暗淡,舌质紫暗,活动减少。检测血浆血栓素 B2(thromboxane B2, TXB2)和脑组织一氧化氮(nitric oxide, NO)含量,都表现出升高的现象,提示造模成功。而“劳则耗气”的方法除了游泳力竭之外,还有疲劳跑步运动法。根据这个理论,黄烁等^[9]采用疲劳跑步运动的方法造模。具体是让大鼠在跑台水平状态中进行每天 1 次为期 2 周中等强度的跑步运动,观察到大鼠出现精神萎靡、被毛无光、活动度降低、大便稀,鼻尖、口唇、舌面均发生不同程度的紫暗。呼吸幅度和脉搏都显著下降,检测见全血粘度切变率均出现升高。王磊沙等^[10]采用

每天睡眠剥夺 16 h(每天 16:00 ~ 8:00)的方法造模。舌面可见散布的瘀点,舌下脉络紫暗,便溏。检测可见全血粘度切变率均明显升高,PT 缩短。

(2)多因素刺激模型

许颖智等^[11]选用饥饿、疲劳和寒湿刺激的因素造模,具体为:根据体重计算,给予大鼠 40 g/kg 的饲料,在室温(15 ± 1)℃下,强迫大鼠游泳至疲劳,平均(10 ± 5)min 后,不予以保温任其晾干。可观察到大鼠倦怠萎靡、毛发稀疏呈黄白色、反应慢、胸前皮肤颜色淡暗。检测可见血小板聚集率(platelet aggregation rate, PAG)升高,血浆颗粒膜蛋白-140(plasma granule membrane protein-140, GMP-140)水平升高,降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)水平降低。任建勋等^[12]使用日夜颠倒+不可预知的慢性睡眠剥夺复合半高脂高糖饮食的方法造模。具体为:在半高脂高糖饲料喂养的基础上,使用常相光照(8:00 ~ 20:00 光照, 20:00 ~ 8:00 黑暗)、反相光照(8:00 ~ 20:00 黑暗, 20:00 ~ 8:00 光照)、持续光照(24 h 光照)及持续黑暗(24 h 黑暗)4 个过程(为 1 个阶段),每个阶段 7 d,连续重复 6 周,在每个阶段中随机安排以上 4 个过程,每个阶段对大鼠进行 48 h 的睡眠剥夺,当大鼠进入睡眠时,给予低压电刺激,使大鼠保持清醒无法进入睡眠状态。检测见全血粘度低切变率、血清总胆固醇(total cholesterol, TC)与低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)都出现显著升高,血浆血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)含量,内皮素(endothelin, ET)含量明显升高。张玉昆等^[13]选取老年大鼠复合一次性向气管内注射博来霉素制备模型,检测可见全血粘度低中切变率升高,血小板体积分布宽度(platelet volume distribution width, PDW)和血小板平均体积(mean platelet volume, MPV)升高,环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)水平降低,环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)水平升高,TT 和 PT 缩短,血小板因子 4(platelet factor 4, PF4)水平和纤溶酶原激活抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)水平升高。彭桂原等^[14]使用耗气破气加饥饱失常法共 15 d 造模,具体为:采用“足量给食-限量给食”的循环方法,使用“小承气汤”作为破气苦降药,给药当天禁食,次日自由进食。造模后,观察到模型组豚鼠精神萎靡,行动迟缓,便溏,被毛有不同程度枯槁脱落,检测发现血清 D-木

糖的浓度降低,病理检查 corti 器的内毛细胞,发现毛细胞有变性、坏死和缺失的情况。

1.3 血虚血瘀

气血同源,“气为血之帅,血为气之母”。血虚则气虚,气虚则血行不利形成瘀证。常复蓉等^[15]采用股动脉放血的方法制备模型,每天放 1.5% 的血量,总放血量为家兔自身总血量的 50% 左右。放血结束后检测结果与放血前对比可见,家兔的红细胞总数、血红蛋白(hemoglobin, HB)降低,WBV 和 PV 升高,HCT 降低,红细胞变形能力下降;TT 和 PT 降低,纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)升高;NE 降低,酸性 α-萘乙酸酯酶(acid-naphthoacetate esterase, ANAE)降低,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)降低,TXB2 升高。金翔等^[16]采用皮下注射乙酰苯肼和腹腔注射环磷酰胺的方法复制模型,具体为:对大鼠在第 1 天和第 3 天时,以 0.005 mL/g 的剂量皮下注射乙酰苯肼,第 3 天注射后 2 h,腹腔注射 0.005 mL/g 的环磷酰胺,此后连续 3 d 行同剂量的环磷酰胺腹腔注射。微循环图像分析仪观察可见,大鼠耳廓微血管血流量降低,血流速减缓。

1.4 外伤血瘀

由例如创伤、跌打损伤及金刃损伤等多种原因所致的脉管破损,致使血溢于脉外,成为离经之血后未能及时消散或排出体外,积聚于体内后而形成瘀血。魏荣锐等^[17]用铁杵击大鼠右后肢软组织,使之形成外伤血瘀模型,具体为:实验前 1 d 将大鼠右后肢脱毛并测量其周长,实验当天,以钝器自由落体击伤大鼠右后肢,造成肉眼可见的皮下出血伴有明显肿胀的非开放性软组织损伤,再测量周长并评分。观察损伤部位可见皮下淤血,组织肿胀,肌肉颜色暗红或紫暗。检测可见全血粘度和红细胞聚集指数升高,全血粘度切变率均升高。沈欣等^[18]选用击打高度 10.5 cm,重 1013 g 的落体击打仪,自由落体击打大鼠右小腿的中部外侧。可见大鼠真皮及皮下组织,肌外膜、肌束膜和肌纤维间出现不同程度的出血、渗出和炎细胞浸润;肌纤维间距增大、存在不同程度的变性、坏死。

1.5 寒凝血瘀

《医林改错·积块》说:“血受寒则凝结成块”。若外感寒邪入于血脉,或阴寒内盛血脉挛缩,都会导致血液凝涩而运行不畅,故血液在体内瘀积不散,形成瘀血。

(1) 单因素造模

王丹丹等^[19]采用低温冷冻法:将大鼠放置于 0 ~ 1℃ 的冰水 20 min, 每日 1 次, 连续两周, 形成大鼠的寒凝血瘀模型。观察可见大鼠寒战, 蜷缩少动, 喜扎堆, 爪尾部紫暗, 耳色暗红, 舌质紫暗, 舌下脉络增粗增长, 便溏。吴卓霖等^[20]采用改良暴露法造模, 具体为, 将大鼠放置于 (-10 ± 2)℃ 的低温冰柜中, 使用含 91.5% 氮和 8.5% 氧混合气体的气袋, 放入冰柜内并缓慢放气, 持续 1 h 后取出, 每天 1 次, 连续 5 d。观察到大鼠也出现蜷缩少动, 食少便溏, 被毛无光等体征。检测可见全血黏度切变率, 血浆黏度和红细胞聚集指数皆升。唐照亮等^[21]通过用电扇每日 4 h 低速吹风, 营造出 3 ~ 4 级风力、1℃ ~ 6℃ 的风寒环境, 使大鼠在此环境中持续低温受冻 3 周造模。检测可见大鼠血浆 ET 水平升高, NO 水平降低, ET/NO 比值增大。

(2) 多因素造模

Dang 等^[22]采用静脉注射去甲肾上腺素加牛血清蛋白复合冰水游泳的方法造模, 在第 1 天和第 10 天对大鼠静脉注射牛 2.5 mg/kg 的血清白蛋白, 在 4 ~ 17 d 时, 每天 2 次静脉注射 0.02 mg/kg 的去甲肾上腺素, 在第 18 ~ 24 天时, 将大鼠放入 0℃ ~ 4℃ 的冰水中游泳 5 min。检测可见 PT、APTT、TT 缩短, FIB 含量升高, TXB2 水平升高, 6-keto-PGF1α 水平降低, 大鼠血浆的血栓素 A2 (thromboxane, TXA2) 和 ET 水平升高, 内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 和前列环素 (prostacyclin, PGI2) 的水平降低。刘丹等^[23]采用冰水浴加肾上腺素注射法复制模型, 具体是将大鼠连续 7 d, 每天 1 次放入 0 ~ 1℃ 的冰水中 5 min, 第 8 天时, 对各模型组大鼠进行 2 次 1% 肾上腺素 (0.0008 mL/g) 的皮下注射, 2 次间隔 4 h。造模后可见大鼠稀便、少动、毛色不荣、爪尾紫暗、尾凉及摄食减少。检测可见全血粘度切变率升高, 血浆粘度升高, ET 含量升高, NO 水平降低, 血清 IL-6、TNF-2α 水平显著升高。贾丹兵等^[24]给大鼠皮下注射 2 次, 间隔 4 h 的 0.1% 盐酸肾上腺素 0.0008 mL/g, 第 1 次注射 2 h 后将大鼠浸泡在 4℃ 的冰水中 5 min 造模。检测可见全血粘度切变率升高, 血浆粘度升高, 红细胞压积明显升高。

1.6 阳虚血瘀和阴虚血瘀

阴阳之间存在对立制约、互根互用、消长平衡、相互转化的关系。气分阴阳, 可推动和调控血液运

行, 阳虚则脉道失于温通而滞涩, 阴虚则脉道失于柔润而僵化, 阴阳失衡则会影响气、血、津液的输布从而形成瘀证。

(1) 阳虚血瘀

温瑞兴等^[25]采用断食 1 夜后将大鼠放入 -15℃ 冷冻 4 h 造成阳虚血瘀的模型, 检测可见凝血时间缩短, 但未见血浆粘度发生明显变化, 提出阳虚是导致机体功能下降区别于有形之瘀的证候。张明雪等^[26]采取高脂饮食、寒冷刺激复合脑垂体后叶素注射的方法复制阳虚血瘀证模型。具体为: 给予大鼠高脂饲料, 将大鼠放于 -2℃ ~ -4℃ 的寒冷环境中持续 6 周, 在第 35 天, 皮下注射脑垂体后叶素 (pit, 10 U/kg)。造模后, 大鼠出现心肌损伤且心功能减退的现象, 心电图显示心肌缺血, 检测可见血脂和心肌酶升高, 血小板聚集率升高。刘如秀等^[27]采用甲醛加压注射渗透法建立兔心阳虚血瘀证模型, 在心电图监测下, 推注 0.01 ~ 0.02 mL 20% 的甲醛直至心率下降 30% ~ 50%, 或出现心律失常时停止。造模后可见兔体重减少、精神萎靡不振、蜷缩少动、毛色枯槁、舌色暗红或淡紫; 可见兔体温下降呼吸频率增高、心率下降、单位时间内游泳速率下降、全血粘度升高、全血粘度切变率升高、红细胞聚集指数升高。

(2) 阴虚血瘀

叶宏军等^[28]采取氢化可的松联合肾上腺素造模, 具体为: 对大鼠连续 14 d 进行肌肉注射 10 mg/kg 的氢化可的松注射液, 在第 14 天和第 15 天取血前 1 h 皮下注射 0.5 mg/kg 的 0.1% 肾上腺素。通过检测可见全血粘度切变率均升高, 血浆粘度、血沉、红细胞压积和血小板黏附率均升高, 血小板聚集率也同样升高。卞慧敏等^[29]采用每日皮下注射 48 mg/kg 的 D-半乳糖, 第 32 天开始, 再联合肌肉注射 1.5 mg/kg 地塞米松的方法, 共 39 d 完成造模。经检测大鼠的 PT、APTT 出现明显缩短, 血小板聚集率升高, 血浆 PGI1α 水平降低, TXB2 和 ET 升高。

1.7 痰浊血瘀

津液和血均来源于精气, 在运行输布中相互转化, 且都具有滋润濡养的作用, 《内经》曰: 津入脉管, 变化而赤是谓血。可见津可入血, 血可成津, 二者相辅相成, 一荣俱荣, 一损俱损。血液不循常道成瘀, 而津液不循常道则成痰浊。张蕾等^[30]采用颈动脉针控线栓法、维生素 D3 注射结合高脂饮食的

方法造模。具体为:在大鼠的颈总动脉旁平行放置直径为 0.06 mm 的针头,用 6 号尼龙线将两者扎紧,抽出针头待血流恢复后即可造成一定程度的颈总动脉狭窄。术后第 5 天,连续 3 d 对大鼠注射维生素 D3,同时给予高脂饲料喂养 2 ~ 8 周,分时间点取材检测。检测可见大鼠血脂和血胆固醇升高,全血粘度、血浆粘度和红细胞压积升高。HE 染色可见颈动脉内皮和中膜内有脂滴和泡沫细胞,动脉壁结构破坏,弹力纤维断裂等。王莹威等^[31]采用高脂饲料喂养 8 周的方法造模(配方:胆固醇 1%,猪油 15%,蛋黄粉 15%和基础饲料 79%)。检测可见 TC、甘油三酯(triglyceride, TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平显著升高,高密度脂蛋白胆固醇水平降低,miR-21 和 TGF β R II 的表达水平明显升高。

1.8 热毒血瘀

《医林改错·积块》所述:“血受热则煎熬成块”。外感火热两邪,或体内阳盛而化火入血,血热互结而煎灼血中津液,则血液黏稠运行不畅;或热灼脉络,迫血妄行使内出血,以致血液滞于体内不散成瘀。杜巧辉等^[32]在末次给药 5 h 后,给大鼠腹腔注射 2.5 mL/kg 的角叉菜胶溶液,8 h 后再经尾静脉注射 1 mL/kg 的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)溶液,尾部出现明显且肉眼可见的血栓为造模成功。观察大鼠出现反应迟钝、扎堆少动、便溏、四肢瘫软无力。检测发现大鼠白细胞升高,血小板和红细胞降低,红细胞压积、全血粘度和全血粘度低切变率均升高。李妍等^[33]采用 LPS 注射的方法对小鼠造模。具体为:首次以 3 mg/kg 的剂量经尾静脉注射 LPS 溶液,20 h 后开始以 4 mg/kg 的剂量行腹腔注射,隔天 1 次,连续 6 周。观察可见小鼠食量减少,呼吸频率偏快,耳缘毛细血管变深红甚至紫红,双眼球色暗红,爪甲紫暗。小鼠耳缘血管网、足趾血管网、腹壁静脉局部的血流量均减少,检测可见小鼠血粘度升高,全血粘度低中高切变率均升高。

1.9 慢性血瘀

《内经》说:“六十岁,心气始衰,苦忧悲,血气懈惰。”《医林改错》指出:“元气既虚,必不能达于血管,血管无气,必停留成瘀”。衰老后,元气衰弱,因气血同源,故血行减缓易滞成瘀。毛腾敏等^[34]选择 24 ~ 27 月鼠龄的老年大鼠为模型研究,检测全血粘度低、高切变率,血浆比粘度和血清比粘度,出现升高的现象;红细胞电泳速度降低,红细胞变形能

力下降,电刺激老年鼠颈动脉后,体内血栓形成时间明显缩短,老龄鼠的体外血栓长度、湿重和干重均有增加,血浆胆固醇含量明显增高。贾景景等^[35]采取每日 1 次,连续 7 周对大鼠皮下注射 100 mg/kg D-半乳糖复制模型。造模后发现大鼠下肢基础微循环灌注量降低,检测可见血小板聚集率、纤维蛋白原和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平均升高, SOD 活性降低。

2 实验室评价方法

2.1 模型动物的一般情况

虽然血瘀证的分型很多,但在造模表现上存在着一定的相似性。血瘀证的动物模型,均表现有毛色暗淡无光、舌质暗红或淡紫、运动量减少、精神萎靡、食少便溏、大小鼠可见爪甲紫暗及尾凉蜷缩。

2.2 血液指标选取

血瘀证在血液流变学的改变是现在公认的客观指标,故选择的指标有:全血粘度切变率(WBV),血浆粘度(PV),红细胞压积(HCT),血沉(ESR)。血瘀证也会引起凝血功能的改变,故:血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)也被纳入考虑范围。血液的瘀滞和血栓的形成和血小板相关指标也有关系:血小板体积分布宽度(PDW)、血小板平均体积(MPV)、血小板聚集率(PAG)。

2.3 生化指标选取

慢性血瘀证以及高脂饲料喂养的动物模型可有生化指标的改变,故可选取:总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL-C)。

2.4 血浆中特定指标的选取

血瘀证的微观病理改变和血管内皮细胞功能损伤关系密切^[36]。血浆内皮素(ET)、血栓素 A2(TXA2)、血栓素 B2(TXB2)、血管紧张素 II(Ang II)、前列环素(PGI2)、前列腺素 E2(PGE2)、一氧化氮(NO)、超敏 C 反应蛋白(high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、血浆颗粒膜蛋白-140(GMP-140)、纤溶酶原激活抑制物-1(PAI-1)、降钙素基因相关肽(CGRP)。

2.5 辅助检测

可以选择激光多普勒血流仪,微循环图像分析仪观测耳朵、脚趾、腹部血管的血流值。因为血瘀证和血管内皮损伤存在一定的联系,故可以选择和

血管内皮损伤有关的蛋白进行检测,如:内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、血管性血友病因子(von Willebrand Factor, vWF)、内皮细胞蛋白 C 受体(endothelial cell protein C receptor, EPCR)等。

表 1 血瘀证模型相关内容汇总

Table 1 Summary of related content of blood stasis model

模型分类 Category of models	造模原理和方法 Principle and method of modeling	造模周期 Period of molding
气虚血瘀 Qi-deficiency and blood stasis	(1)疲劳力竭(游泳或跑步)或者疲劳复合集合寒湿刺激 Fatigue exhaustion (swimming or running) or fatigue complex cold and humidity stimulation (2)不可预知慢性刺激复合半高脂高糖饮食 Unpredictable chronic stimulation compound semi-high-fat, high-sugar diet	(1)14 d (2)42 d
血虚血瘀 Blood-deficiency and blood stasis	(1)失血致虚 Blood loss (2)皮下注射乙酰苯肼联合腹腔注射环磷酰胺 Subcutaneous injection of acetylbenzene combined with celiac injection of cyclophosphamide	(1)以动物总血量和体重确定 Determined by the total blood volume and weight of the animals (2)7 d
阳虚血瘀 Yang-deficiency and blood stasis	(1)高脂饮食,寒冷刺激复合垂体后叶素刺激 High-fat diet, cold stimulation compound pituitary post-lyoprotein stimulation (2)甲醛加压注射渗透法 Formaldehyde pressurized injection	(1)35 d (2)直至心率下降 30% ~ 50%或出现心律失常 Until the heart rate drops by 30% ~ 50% or arrhythmic
阴虚血瘀 Yin-deficiency and blood stasis	(1)氢化可的松联合肾上腺素注射 Hydrocortisone combined with epinephrine injection (2)D-半乳糖皮下注射 D-galactose subcutaneous injection	(1)14 d (2)39 d
气滞血瘀 Qi-stagnancy and blood stasis	(1)注射激素(肾上腺素)或者束缚夹尾联合激素刺激模拟情志改变 Injecting hormones (adrenaline) or binding and pinching the tail combined with hormone stimulation to simulate emotional changes (2)以不可预知慢性刺激影响气机 Affect the Qi machine with unpredictable chronic stimulation	(1)7 d (2)21 d
外伤血瘀 Trauma and blood stasis	钝器损伤 Blunt injury	简单快速 Simple and fast
痰浊血瘀 Phlegm-turbid blood stasis	(1)颈动脉针控线拴,维生素 D3 注射结合高脂饮食饲养法 Carotid needle control thread, vitamin D3 injection combined with high-fat diet feeding method (2)高脂饮食饲养法 High-fat feeding	56 d
寒凝血瘀 Cold and blood stasis	(1)低温冷冻或风寒环境刺激法 Low temperature freezing or wind chill environment stimulation method (2)激素复合冰水浴法 Hormone compound ice bath	(1)一般为 14 d 或 21 d Generally 14 d or 21 d (2)7 d 或 24 d 7 d or 24 d
热毒血瘀 Hea-toxin and blood stasis	(1)腹腔注射角叉莱胶复合尾静脉注射脂多糖法 Intraperitoneal injection of carrageenan combined with tail vein injection of lipopolysaccharide (2)经尾静脉注射脂多糖(LPS)法 Injection of lipopolysaccharide (LPS) via tail vein	(1)末次给药后 5 h 及注射角叉莱胶 8 h 后 5 h after the last dose and 8 h after carrageenan injection 2. 42 d
慢性血瘀 Chronic blood stasis	(1)自然衰老的动物 Naturally aged animals (2)皮下注射 D-半乳糖法 Subcutaneous injection of D-galactose	(1)选取 24 ~ 27 月龄动物 Select animals aged 24 ~ 27 months (2)49 d

表 2 模型表现和指标
Table 2 Model performance and indicators

模型分类 Category of models	造模表现 Performance	指标选取 Selection of indexes
气虚血瘀 Qi-deficiency and blood stasis	神疲倦怠、毛发无光暗淡呈黄白色、食少懒动便溏 Mental tiredness, hairless dim, eat less, loose stools	PT、APTT、PV、NO、ET、Ang II、PDW、MPV、GMP-140、CGRP、PAI-1
血虚血瘀 Blood-deficiency and blood stasis	体重下降、食少懒动 Weight loss, eat less and lazy	RBC、HB、WBV、PV、HCT、PT、TT、FIB、TXB2、SOD
阳虚血瘀 Yang-deficiency and blood stasis	萎靡不振、蜷缩少动、毛色枯槁、舌色暗红或淡紫 Withering, curling and moving less, the hair is dim, the tongue is dark red or pale purple	WBV、PV、PAG
阴虚血瘀 Yin-deficiency and blood stasis	毛色无光、多动易激惹 Hair-color dim, more dynamic and irritable	ESR、WBV、PV、PT、APTT、PAG、PGI1-α、TXB2、ET、HCT
气滞血瘀 Qi-stagnancy and blood stasis	易激惹、精神亢奋攻击性强 Irritable and aggressive	ESR、WBV、PV、HCT、CGRP、ET、Ang II、TXB2、PGE2
外伤血瘀 Trauma and blood stasis	损伤部位明显皮下淤血和肿胀、肌肉暗红或紫暗 Obvious subcutaneous congestion and swelling at the injury site, dark red or purple muscle	WBV、PV
痰浊血瘀 Phlegm-turbid blood stasis	易激惹 Irritable	TC、TG、LDL-C、WBV、PV、HCT、
寒凝血瘀 Cold and blood stasis	寒战、蜷缩少动、喜扎堆、爪尾紫暗、耳色暗红、舌质紫暗、舌下脉络增粗增长、毛色不荣、食少便溏 Chills, curled up and less moving, happy to get together, dark purple claw tails, dark red ears, dark purple tongue, thickening and growth of veins under the tongue, poor hair color, poor food, loose stools	PT、APTT、TT、FIB、eNOS、NO、PGI2、ET、TXA2、Ang II、WBV、HCT、PV
热毒血瘀 Hea-toxin and blood stasis	反应迟钝、扎堆少动、食少便溏、呼吸频率偏快、耳缘毛细血管变深红甚至紫红、双眼球色暗红、爪甲紫暗 Slow reaction, less movement, less food, loose stools, fast breathing rate, ear capillaries turn dark red or even purple, eyes dark red, claw nails dark purple	PLT、WBV、PV、HCT、
慢性血瘀 Chronic blood stasis	精神萎靡、食少懒动 Lethargy, eat less and be lazy	WBV、PV、HCT、PAG、FIB、SOD、MDA、TC

2.6 组织形态学观察

可以通过取动脉做苏木素 - 伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE), 观察对比实验组的血管内皮形态; 还可选择电刺激大鼠颈动脉产生血栓的方法, 通过测量血栓的长度, 干重和湿重来评价实验用药的效果。

3 模型特点

血瘀证模型因其病因病机较多, 故而出现较多分型和造模方法, 不同造模方法的原理, 造模周期和模型表现以及相关的指标选取也有一些差异, 在此将前述各模型相关内容进行汇总(见表 1、2)。

4 小结与展望

近年来, 随着对血瘀证研究的不断深入和完

善, 血瘀证的动物模型得以改进和充实, 其造模原理也主要体现在病因病机与证候的结合。所有的血瘀证动物模型, 在血液流变学上都体现出了“粘”、“浓”、“凝”、“聚”的特点。血瘀证常夹杂多种证候出现, 用单一的刺激因素作用于模型并不能完全满足实际需要, 故而现在常选择多因素复合刺激进行血瘀证的模型复制。这样的模型既符合中医对于血瘀证的诊断, 又能在现代医学的血液流变学上得到体现。

然而, 现在的模型虽然可以模拟一部分证候, 但在临床上血瘀证常因气血两虚, 情志失调导致气机紊乱, 以及环境因素相互作用而产生。目前已有模型还难以将血瘀证杂糅的证候完全体现, 在这一点上还需进一步探索。再者, 血瘀证模型常需通过施加病理因素诱发产生, 这与人类的实际发病情况

并不完全一致,另有一部分自然成瘀的模型耗时较长难以模拟。对于今后的模型复制而言,延续和改进现有的造模原理和方法,采用较为温和的造模方式仍很重要。在保证动物福利前提下,可通过结合多种因素,例如:在结合环境和模拟人体情志变化复合饮食节律的基础上,延长造模时间等方式,或采用更加贴近人体发病后“久病成瘀”的特点进行造模,可能更为接近血瘀证特点。总之,更科学、合理、接近临床特点的动物模型制作仍是血瘀证相关研究及活血化瘀药物筛选的关键环节,相信通过更优的动物模型制作,可为中医药学和现代医学的研究发展提供重要参考。

参 考 文 献(References)

- [1] 陈可冀. 血瘀证与活血化瘀治疗的研究 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2005, 3(11): 10-12.
Chen KJ. Study on the treatment of blood stasis syndrome and promoting blood circulation to remove blood stasis [J]. Chin Med Modern Dis Edu Chin, 2005, 3(11): 10-12.
- [2] 章正祥, 曹克刚, 王芬, 等. 皮下注射肾上腺素复制气滞血瘀模型的血流动力学初探 [J]. 天津中医药, 2011, 28(1): 9-11.
Zhang ZX, Cao KG, Wang F, et al. A preliminary study on hemodynamics of hypodermic epinephrine injection to replicate qi stagnation and blood stasis [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2011, 28(1): 9-11.
- [3] 廖婉, 章津铭, 傅舒, 等. 醋莪术对气滞血瘀证血液流变学影响的表征及谱效相关性研究 [J]. 中成药, 2013, 35(2): 330-334.
Liao W, Zhang JM, Fu S, et al. Study on the effect of Zedoary vinegar on hemorheology with qi stagnation and blood stasis [J]. Chin Tradit Patent Med, 2013, 35(2): 330-334.
- [4] 郑跃, 刘丽, 马莹, 等. 膈下逐瘀汤加减方对气滞血瘀型慢性输卵管炎症大鼠治疗机制研究 [J]. 吉林中医药, 2019, 39(8): 1076-1081.
Zheng Y, Liu Li, Ma Ying, et al. Study on the therapeutic mechanism of Jixixia Zhuyu Decoction plus Decoction on chronic tubal inflammation in rats with qi stagnation and blood stasis [J]. Jilin J Tradit Chin Med, 2019, 39(8): 1076-1081.
- [5] 刘丹彤, 马小娜, 张小勇, 等. 子宫内膜异位症气滞血瘀证大鼠模型的建立及评价 [J]. 中医药学报, 2012, 40(2): 31-34.
Liu DT, Ma XN, Zhang XY, et al. Establishment and evaluation of rat model of endometriosis with qi stagnation and blood mark syndrome [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2012, 40(2): 31-34.
- [6] 扈新刚, 张允岭, 郑宏, 等. 从因脉证治构建气虚血瘀证动物模型的思路探析 [J]. 山东中医药大学学报, 2010, 34(2): 114-119.
Hu XG, Zhang YL, Zheng H, et al. An analysis of the animal model of qi-deficiency and blood-stasis syndrome treated by pulse syndrome [J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med, 2010, 34(2): 114-119.
- [7] 扈新刚, 张允岭, 柳洪胜, 等. 气虚血瘀大鼠模型表征及血液流变学研究 [J]. 天津中医药, 2007, 24(2): 138-141.
Hu XG, Zhang YL, Liu HS, et al. Characterization and hemorheology of rats with qi deficiency and blood stasis [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2007, 24(2): 138-141.
- [8] 徐海蓉. 醒脑丸对气虚血瘀血管性痴呆大鼠的治疗作用研究 [J]. 中国药业, 2014, 23(20): 45-47.
Xu HR. Study on the therapeutic effect of Xingnaowan on rats with qi-deficiency and blood-stasis vascular dementia [J]. Chin Pharm, 2014, 23(20): 45-47.
- [9] 黄烁, 任建勋, 王少辰, 等. 冠心病气虚血瘀证大鼠模型的建立 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9): 1699-1705.
Huang S, Ren JX, Wang SC, et al. Establishment of rat model with qi-deficiency and blood-stasis syndrome in coronary heart disease [J]. Chin J Chin Mater Med, 2016, 41(9): 1699-1705.
- [10] 王磊沙, 徐立, 宋文婷, 等. 多因素复合建立多发性脑梗死气虚血瘀证大鼠模型的探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(8): 105-111.
Wang LS, Xu L, Song WT, et al. Multi-factor compound model of multiple cerebral infarction rats with qi deficiency and blood stasis [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2017, 23(8): 105-111.
- [11] 许颖智, 王晓玲, 旁树朝, 等. 气滞血瘀与气虚血瘀心肌梗死大鼠模型的生物学标记物表达差异 [J]. 中医杂志, 2018, 59(18): 1606-1609.
Xu YZ, Wang XL, Pang SC, et al. Difference in expression of biological markers of qi-stagnation and blood-stasis in myocardial infarction rat model [J]. J Tradit Chin Med, 2018, 59(18): 1606-1609.
- [12] 任建勋, 林成仁, 刘建勋, 等. 多因素复合刺激诱导建立大鼠气虚血瘀证动物模型的探索性研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(1): 72-76.
Ren JH, Lin CR, Liu JX, et al. An exploratory study on the rat model of qi-deficiency and blood-stasis syndrome induced by multi-factor combined stimulation [J]. Chin J Chin Mater Med, 2011, 36(1): 72-76.
- [13] 张玉昆, 冯月男, 卞敬琦, 等. 丹参饮对气虚血瘀模型大鼠的血小板生物学 [J]. 世界中医药, 2019, 14(4): 848-858.
Zhang YQ, Feng YN, Bian JQ, et al. Platelet biology of Salvia miltiorrhiza decoction on rat model of qi deficiency and blood stasis [J]. World Chin Med, 2019, 14(4): 848-858.
- [14] 彭桂原, 李松键, 杨黎, 等. 气虚血瘀型 Corti 器毛细胞损伤动物模型的建立 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(49): 7384-7390.
Peng GY, Li SJ, Yang L, et al. Establishment of animal model of hair cell injury of Corti organ with QI deficiency and blood stasis [J]. J Clin Rehabil Tis Eng Res, 2016, 20(49): 7384-7390.

- [15] 常复蓉, 王殿俊, 刘小浩, 等. 血虚血瘀证动物模型的研制 [J]. 南京中医学院学报, 1992, 8(1): 23-25.
Chang FR, Wang DJ, Liu XH, et al. Development of animal model of blood deficiency and blood stasis [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 1992, 8(1): 23-25.
- [16] 金翔, 时乐, 汪珊珊, 等. 桃红四物汤不同提取部位对血虚血瘀模型大鼠微循环的影响 [J]. 安徽医药, 2010, 14(4): 387-389.
Jin X, Shi L, Wang SS, et al. Effect of different extraction parts of Peach red Siwu Soup on microcirculation in rats with blood deficiency and blood stasis model [J]. Anhui Med Pharm J, 2010, 14(4): 387-389.
- [17] 魏荣锐, 曹姗, 杨亚蕾, 等. 外用芒硝对大鼠外伤性血瘀模型的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(8): 1719-1727.
Wei RR, Cao S, Yang YL, et al. Effect of mirin applied on traumatic blood stasis in rats [J]. China J Tradit Chin Med Pharmacy, 2011, 26(8): 1719-1727.
- [18] 沈欣, 赵宗平, 李德凤, 等. 致康胶囊对大鼠急性软组织损伤及外伤致血瘀的药效学研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(5): 599-610.
Shen X, Zhao ZP, Li DF, et al. Pharmacodynamic study of Zhikang Capsule on acute soft tissue injury and blood stasis induced by trauma in rats [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2014, 20(5): 599-610.
- [19] 王丹丹, 王东梅, 马青, 等. 温经化瘀止痛法对寒凝血瘀证痛经大鼠 Th17、Treg 细胞分化及其细胞因子表达的影响 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(2): 308-310.
Wang DD, Wang DM, Ma Q, et al. Effects of warming meridian and Removing blood Stasis on differentiation of Th17 and Treg cells and expression of cytokines in rats with dysmenorrhea associated with cold coagulation and blood stasis [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2019, 30(2): 308-310.
- [20] 吴卓霖, 林一帆, 王承利, 等. 寒凝血瘀型胃溃疡大鼠模型的建立及冬胃颗粒保护作用的观察 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 3(41): 141-144.
Wu ZL, Lin YF, Wang CL, et al. Establishment of a rat model of gastric ulcer with cold coagulation and blood stasis and observation of the protective effect of Dongwei Granules [J]. Chin J Integr Tradit Western Med Digestion, 2011, 3(41): 141-144.
- [21] 唐照亮, 宋小鸽, 章复清, 等. 艾灸对寒凝血瘀证大鼠血浆内皮素及一氧化氮的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(3): 57-58.
Tang ZL, Song XG, Zhang FQ, et al. Effects of moxibustion on plasma endothin and nitric oxide in rats with cold coagulation and blood stasis syndrome [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2002, 8(3): 57-58.
- [22] Dang X, Miao JJ, Chen AQ, et al. The antithrombotic effect of RSNK in blood-stasis model rats [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 15: 266-272.
- [23] 刘丹, 池玉梅, 邓海山, 等. 少腹逐瘀汤对寒凝血瘀模型大鼠氧化应激因子、炎性介质及血管舒缩因子的影响 [J]. 南
京中医药大学学报, 2014, 30(3): 249-253.
- [24] 贾丹兵, 于森, 李乃民, 等. 寒凝气滞血瘀证大鼠动物模型的建立及评价 [J]. 中医药信息, 2014, 31(4): 75-77.
Jia DB, Yu M, Li NM, et al. Establishment and evaluation of rat animal model with cold-setting qi - stagnation and blood stasis syndrome [J]. Inf Tradit Chin Med, 2014, 31(4): 75-77.
- [25] 温瑞兴, 李文, 崔成德, 等. 外伤血瘀证和阳虚血瘀证动物模型血液流变学的比较研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11(11): 833-836.
Wen RX, Li W, Cui CD, et al. Comparative study of hemorheology in animal models of traumatic blood stasis and Yang-deficient blood stasis [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2005, 11(11): 833-836.
- [26] 张明雪, 刘宁, 常艳鹏, 等. 温阳活血中药复方对冠心病阳虚血瘀证大鼠血小板超微结构及聚集率的影响 [J]. 中国中医急症, 2008, 17(4): 503-504.
Zhang MX, Liu N, Chang YP, et al. Effect of compound Chinese medicine of warming Yang and promoting blood circulation on platelet ultrastructure and aggregation rate in rats with coronary heart disease syndrome of Yang deficiency and blood stasis [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2008, 17(4): 503-504.
- [27] 刘如秀, 李汇博, 王妮娜, 等. 益阳活血方对兔病窦综合征心阳虚血瘀证模型中医证候及血液流变学的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(9): 2065-2068.
Liu RX, Li HB, Wang NM, et al. The effect of Yiyang Huoxue Prescription on traditional Chinese medicine syndrome and hemorheology in rabbit sinus syndrome model of heart-yang deficiency and blood stasis [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharmacy, 2011, 26(9): 2065-2068.
- [28] 叶宏军, 卞慧敏, 张启春, 等. 六味地黄汤对阴虚血瘀证模型大鼠血液流变的影响 [J]. 中国血液流变学杂志, 2008, 18(1): 14-16.
Ye HJ, Bian HM, Zhang QC, et al. Effect of liuwe dihuang decoction on hemorheology in rats with Yin deficiency and blood stasis syndrome [J]. Chin J Hemorheol, 2008, 18(1): 14-16.
- [29] 卞慧敏, 龚婕宁, 魏凯峰, 等. 六味地黄汤对衰老加阴虚血瘀模型大鼠的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21(4): 2-4.
Bian HM, Gong JN, Wei KF, et al. Protective effect of Liuwe Dihuang Decoction on aging plus Yin deficiency and blood stasis model rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2005, 21(4): 2-4.
- [30] 张蕾, 张琪, 游云, 等. 基于代谢组学技术探讨高脂血症及动脉粥样硬化痰证候的演变规律 [J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(7): 44-46.
Zhang L, Zhang Q, You Y, et al. Study on the evolution of hyperlipidemia and atherosclerosis hardening phlegm and blood stasis syndromes based on metabonomic techniques [J]. Chin J

- Integr Trad West Med, 2015, 35(7): 44-46.
- [31] 王莹威, 刘蕾, 张瑶, 等. 益气降浊颗粒对冠心病(痰浊血瘀型)家兔血脂、miR-21 及 TGF β R II 表达的影响 [J]. 中国中医急症, 2017, 26(11): 44-46.
- Wang YW, Liu L, Zhang Y, et al. Yiqi material particles of coronary heart disease (phlegm turbidity and blood stasis type) of rabbit blood lipids, miR-21 and the influence of TGF β R II expression [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2017, 26(11): 44-46.
- [32] 杜巧辉, 谢晓芳, 彭成, 等. 黄连解毒汤不同组分群对热毒血瘀证大鼠的影响 [J]. 中药与临床, 2014, 5(4): 9-11.
- Du QH, Xie XF, Peng C, et al. Effect of different groups of Huanglian Jiedu Decoction on rats with heat toxic blood stasis syndrome [J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2014, 5(4): 9-11.
- [33] 李妍, 钱丽燕, 唐朋林, 等. 热毒血瘀证结肠癌荷瘤小鼠模型的建立及清热解毒活血化瘀法对其的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(3): 1336-1339.
- Li Y, Qian LY, Tang PL, et al. Establishment of a tumor-bearing mouse model of febrile toxin and blood stasis syndrome in colon cancer and its effect on clearing heat, detoxifying, activating blood circulation and removing blood stasis [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharmacy, 2017, 32(3): 1336-1339.
- [34] 毛腾敏, 马治中, 李顺成. 血瘀病理模型探索(二)衰老血瘀模型观测 [J]. 北京医科大学学报, 1991, 23(2): 100-102.
- Mao TM, Ma ZZ, Li SC. Research on pathological model of blood stasis (ii) observation of aging blood stasis model [J]. J Beijing Med Univ, 1991, 23(2): 100-102.
- [35] 贾景景, 毛鑫, 陈影, 等. 丹参联合运动对老年血瘀症大鼠模型的影响及机制研究 [J]. 中国药物警戒, 2016, 13(2): 65-69.
- Jia JJ, Mao X, Chen Y, et al. Effect and mechanism of salvia miltiorrhiza combined exercise on rat model of senile blood stasis [J]. Chin J Pharmacov, 2016, 13(2): 65-69.
- [36] 李果, 左冠超, 齐鸣, 等. 中医血瘀证研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(5): 71-73.
- Li G, Zuo GC, Qi M, et al. Progress in the study of blood stasis syndrome in traditional Chinese medicine [J]. Asia-Pac Tradit Med, 2016, 12(5): 71-73.

[收稿日期] 2020-10-13

SARS-CoV-2 感染加重患有心血管疾病和糖尿病的小鼠疾病表型

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情肆虐全球,已对全球人类健康造成严重威胁。患有基础性疾病的病人在感染新冠后表现出更强的致病性和更高的致死率,但具体原因并不清楚。

中国医学科学院医学实验动物研究所基因工程技术课题组、病理课题组和感染性疾病课题组的研究人员,通过构建携带人源 ACE2 的腺病毒,结合已有的心肌病小鼠模型和糖尿病小鼠模型,快速建立新冠病毒感染的共病小鼠模型,研究已有基础性疾病对新冠病毒感染的影响和机制。

研究使用了阿霉素诱导的心肌病小鼠模型、CTnTR141w 心肌病转基因小鼠模型和 ob/ob 糖尿病小鼠模型,在利用携带人源 ACE2 的腺病毒感染小鼠肺部 5 天后,感染 SARS-CoV-2,观察小鼠的体重变化、病毒载量,肺组织病理等。结果发现,相对于对照小鼠,具有基础性疾病的小鼠在感染 SARS-CoV-2 后,表现出更严重的肺炎和肺组织病理学改变。

在心肌病共病小鼠模型中,心肌损伤相关标志物表达显著上调,心肌组织表现出更严重的组织学损伤表型,包括心肌纤维化程度、心肌纤维以及神经纤维断裂等。并 40% 的感染心肌病共病小鼠心肌组织中可检测到新冠病毒存在。对 SARS-CoV-2 感染引起的病理改变的信号机制分析,检测到 ROS 累积以及线粒体介导的凋亡信号的激活可能诱发了心肌损伤的加剧。

在糖尿病小鼠模型中,检测到感染 SARS-CoV-2 后,空腹血糖升高,胰岛素应答受损,并且共病小鼠表现出骨质疏松表型,通过信号机制分析,这可能是 PI3K/AKT/mTOR 信号途径受损所致。

综上,该研究建立了三种心肌病、糖尿病感染 SARS-CoV-2 的共病小鼠模型,为基础性疾病感染 SARS-CoV-2 后的病理进程和机制研究提供了动物模型。该工作受到了国家自然科学基金、传染病重大专项、医科院创新工程以及北京市自然科学基金项目的支持。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊(*Animal Model & Experimental Medicine*, 2021, 4: 2-15)。