

本文引用: 余怡斌, 梁 昊, 董文波, 李欣春, 易 琼, 谭朵廷, 胡志希, 李 琳. 三种心力衰竭大鼠模型的病理差异及中医证候评价[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(5): 737-743.

## 三种心力衰竭大鼠模型的病理差异及中医证候评价

余怡斌<sup>1</sup>, 梁 昊<sup>2</sup>, 董文波<sup>3</sup>, 李欣春<sup>1</sup>, 易 琼<sup>4</sup>, 谭朵廷<sup>1</sup>, 胡志希<sup>2</sup>, 李 琳<sup>1\*</sup>

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学中医诊断研究所, 湖南 长沙 410208;  
3. 北海市第二人民医院, 广西 北海 536000; 4. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007

**[摘要]** **目的** 对多柔比星(doxorubicin, DOX)、高血压和异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)诱导的心力衰竭(以下简称“心衰”)大鼠模型在造模过程、病理特点等方面进行比较,并对其中医证候进行评价,以助研究者选择适当的模型。**方法** 30只雄性Dahl盐敏感性大鼠为高血压心衰模型组(8% NaCl高盐饲料喂养,连续喂养20周);60只雄性SD大鼠随机均分为DOX心衰模型组(DOX 1.5 mg/kg,每周2次,腹腔注射,共7周)和ISO心衰模型组[ISO 5 mg/(kg·d),连续7 d,腹腔注射,再继续饲养3周];另取10只雄性SD大鼠作为空白对照组。对大鼠心脏、肾脏、肝脏进行HE染色,对心肌细胞进行Masson染色;用ELISA法检测大鼠血清N末端脑钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)水平;用超声心动图评估大鼠的心脏功能;结合自然状态和一般体征探讨3种心衰大鼠模型的中医证型。**结果** 与空白对照组比较,DOX心衰模型组大鼠活动量减少、体温降低、水肿明显;高血压心衰模型组大鼠精神不振、尿量减少并且水肿;ISO心衰模型组大鼠活动减少、体温下降、大便稀软;DOX心衰模型组和高血压心衰模型组的肾脏均有较严重的病理损伤,ISO心衰模型组仅有心脏损伤;3种心衰模型组血清NT-proBNP均增加( $P<0.05$ )、左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)和左室短轴缩短率(left ventricular fraction shortening, LVFS)均降低( $P<0.05$ )。DOX心衰模型组和ISO心衰模型组中医证候为阳虚证,高血压心衰模型组中医证候为气阴两虚证。**结论** 根据大鼠的宏观表现和微观指标,3种模型病理有较大差异,应慎重选择;DOX和ISO心衰模型可能为阳虚证,高血压心衰模型可能为气阴两虚证。

**[关键词]** 心力衰竭;大鼠模型;病因造模;病理差异;中医证候;模型评价

**[中图分类号]**R256.2

**[文献标志码]**A

**[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.05.004

## Pathological differences and Chinese medicine pattern evaluation of three rat models of heart failure

YU Yipin<sup>1</sup>, LIANG Hao<sup>2</sup>, DONG Wenbo<sup>3</sup>, LI Xinchun<sup>1</sup>, YI Qiong<sup>4</sup>, TAN Duoting<sup>1</sup>, HU Zhixi<sup>2</sup>, LI Lin<sup>1\*</sup>

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Institute of Chinese Medicine Diagnosis, Changsha, Hunan 410208, China; 3. The Second People's Hospital of Beihai, Beihai, Guangxi 536000, China; 4. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

**[Abstract]** **Objective** To compare rat models of heart failure induced by doxorubicin (DOX), hypertension, and isoproterenol (ISO) in terms of modelling process and pathological features and to evaluate their Chinese medicine patterns to assist researchers in selecting appropriate models. **Methods** Thirty male Dahl salt-sensitive rats were used as the hypertensive heart failure model group (8% NaCl high-salt chow fed continuously for 20 weeks); sixty male SD rats were divided randomly and equally

**[收稿日期]**2023-10-16

**[基金项目]**国家自然科学基金面上项目(82274411,82274412);湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ40300);湖南省自然科学基金项目(2023JJ30453);湖南中医药大学科研基金“揭榜挂帅”专项项目(2022XJJB002);湖南省青年科技创新人才项目(2022RC1021)。

**[通信作者]**\* 李 琳,女,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:471920830@qq.com。

into the DOX heart failure model (DOX 1.5 mg/kg, intraperitoneally injected twice weekly for 7 weeks) and the ISO heart failure model groups [ISO 5 mg/(kg·d), intraperitoneally injected for 7 consecutive days and then continued feeding for another 3 weeks]; and another 10 male SD rats were used as blank control group. HE staining was used to dye the hearts, kidneys, and livers of rats and Masson staining was used to dye cardiomyocytes; serum levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) were determined by ELISA; and the cardiac function of rats was evaluated by echocardiography. Combined with the natural state and general signs, the Chinese medicine patterns of three heart failure rat models were also explored. **Results** Compared with the blank control group, the rats in the DOX heart failure model group had reduced activity, decreased body temperature, and obvious edema; the rats in the hypertensive heart failure model group showed lassitude, reduced urine output, and edema; and rats in the ISO heart failure model group showed reduced activity, decreased body temperature, and loose stool. The DOX and hypertensive heart failure model groups showed relatively serious pathological damage in the kidneys, while the ISO heart failure model group only had heart damage. Serum levels of NT-proBNP of the three heart failure model groups all increased ( $P<0.05$ ), while left ventricular ejection fractions (LVEF) and left ventricular fraction shortening (LVFS) both decreased ( $P<0.05$ ). The Chinese medicine pattern of the DOX heart failure model and ISO heart failure model groups was yang deficiency, while that of the hypertensive heart failure model group was dual deficiency of qi and yin. **Conclusion** According to the macroscopic manifestations and microscopic indexes of the rats, the three models have great differences in pathology, and thus careful selection is necessary. DOX and ISO heart failure models may be yang deficiency pattern, while hypertensive heart failure models may be dual deficiency of qi and yin pattern.

[**Keywords**] heart failure; rat model; etiological modelling; pathological difference; Chinese medicine pattern; model evaluation

心力衰竭(以下简称“心衰”)是由于多种原因导致心脏结构和(或)功能的异常改变,而使心脏收缩(或)舒张功能发生障碍,是各种心脏疾病的晚期阶段,被称为“21世纪心血管病的最后战场”<sup>[1-2]</sup>。据统计,心衰的发生与年龄明显相关<sup>[3-4]</sup>,是严重威胁人类健康的危重病、多发病<sup>[5]</sup>。为了研究心衰的病理生理、诊断、治疗等,研究者们建立了多种心衰动物模型。其中,使用大鼠作为动物模型具有成本低、便于饲养、造模易成功等诸多优势,在实验中最为常用。但不同的造模方法,建立的动物模型并不相同,有些甚至造成了额外的脏器损伤,产生的病理变化也有差异。这些不同的动物模型,属于病因差异造模,会出现不同表现,可能对应不同的中医证候。本课题组前期通过以方测证验证了一些心衰动物模型的证候属性<sup>[6]</sup>。本研究旨在对多柔比星[(doxorubicin, DOX)又称阿霉素]、高血压和异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)诱导的心衰模型在造模过程、病理特点等方面进行比较,探讨不同动物模型的病理差异及与中医证候之间的相关性,并对其中医证候进行评价,以助研究者选择适当的模型。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级雄性Dahl盐敏感性大鼠30只,体质量(220±

10) g,动物合格证号:11400700134072;SPF级雄性SD大鼠70只,体质量(220±10) g,动物合格证号:43004700029162。所有实验用大鼠均由北京维通利华动物公司提供,所有动物饲养于湖南中医药大学动物实验中心SPF级实验室内[SYXK(湘)2019-0009/SYXK(湘)2013-0005],所有实验方案均通过湖南中医药大学伦理委员会审批(LLBH-202010130003)。

### 1.2 主要试剂与仪器

DOX(山东新时代药业有限公司,批号:220103-A16);ISO(美国MedChemExpress公司,批号:HY-B0468/CS-2582);大鼠N末端脑钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)ELISA试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,批号:W210349115);二甲苯、中性树胶(中国医药集团有限公司,批号:10023418、10004160);苏木精、伊红染色液(上海威奥生物科技有限公司,批号:02A230427、02B230519);Masson三色染色液(上海爱必信生物科技有限公司,批号:abs9347)。

超低温冰箱(安徽中科美菱低温科技股份有限公司,型号:CDWBX33);小型高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H1650R);无创血压系统(成都泰盟科技有限公司,型号:BP-300A);彩色多普勒超声诊断仪(飞依诺科技苏州有限公司,型号:SonoScape-SZN);多功能酶标分析仪

(深圳市汇松科技发展有限公司,型号:MB-530)。

### 1.3 实验方法

1.3.1 分组与模型制作 30只雄性Dahl盐敏感性大鼠为高血压心衰模型;60只雄性SD大鼠随机均分为DOX心衰模型组和ISO心衰模型组;另取10只雄性SD大鼠作为空白对照组。造模期间,所有不同组别大鼠均按照3只/笼,置于(24±2)℃、相对湿度50%±10%,12h/12h明暗交替的环境中,自由采食和饮水。不同组别的造模方法具体如下。DOX心衰模型组:DOX 1.5 mg/kg,每周2次,腹腔注射,共7周<sup>[7]</sup>;高血压心衰模型组:8% NaCl高盐饲料喂养,每笼喂养饲料60 g/d,自由取水,连续喂养20周<sup>[8]</sup>;ISO心衰模型组:ISO 5 mg/(kg·d),连续7d,腹腔注射,再继续饲养3周<sup>[9]</sup>;空白对照组:不做其他特殊处理,正常饲养。

1.3.2 取材 20%乌拉坦溶液,按5 mL/kg对大鼠进行麻醉。剪开腹部皮肤,翻出肠管,剥离腹膜,暴露腹主动脉,采血3 mL以上,4℃,3 000 r/min离心15 min(离心半径为17.8 cm),保留上清液,放于-80℃冰箱备用。剪断血管,剥离双肾,去掉被膜,放入多聚甲醛固定液;继续在右上腹寻找到肝脏,剪下放入多聚甲醛固定液;剪开肋骨,暴露胸腔,剪断血管,剥离心脏,剪下前壁组织,放于甲醛中固定。

### 1.4 模型评价方法

1.4.1 自然状态观察 实验期间,观察各组大鼠活动量、摄食、饮水量、毛发、粪便及精神状态,每天记录各组大鼠的表现,评价各组大鼠的自然状态。

1.4.2 一般体征检查 实验期间每日对各组大鼠尿量、水肿情况进行监测,在模型处死前对大鼠的直肠温度进行测量并记录。

1.4.3 组织学观察 对心脏、肾脏、肝脏进行HE染色:石蜡切片脱蜡至水,依次将组织切片放入二甲苯I、二甲苯II、无水乙醇I、无水乙醇II、75%乙醇5 min,蒸馏水洗。苏木精染色、伊红染色、脱水封片,显微镜镜检采集分析。对心肌组织进行Masson染色:石蜡切片脱蜡至水、铁苏木素染色、丽春红酸性品红染色、苯胺蓝染色、分化、透明封片,显微镜镜检采集分析。并使用Image-Pro Plus 6.0分析各组心肌胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF),CVF=胶原面积/视野总面积×100%。计算方式:每张Masson切片选取5个视野取其平均值。

1.4.4 血清NT-proBNP检测 采用复孔操作,先加稀释液100 μL,将标准品、各组制备的血清(均为50 μL)加入孔内,用膜封住,30℃水浴锅孵育2 h,甩干,滴加洗涤液,清洗4次,加酶,温育,洗涤。彻底清洗后加底物90 μL显色,37℃避光显色15~30 min,加50 μL终止液,直到孔中颜色由蓝变黄。底物在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。15 min后酶标仪上测定光密度值,将结果导入Excel,通过标准品拟合曲线,生成公式,推导各标本实际的含量。

1.4.5 超声心动图检测 在超声心动图的引导下,用M型超声经胸骨左心室长轴切面测量左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD)、左室收缩末期内径(left ventricular end-systolic dimension, LVESD),测量3个心动周期的均值,按照 $V=(7.0/2.4+D) \times D^3$ [其中V是体积,D是左室直径]公式计算左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)及左室短轴缩短率(left ventricular fraction shortening, LVFS)<sup>[10]</sup>,并同步记录心率。

### 1.5 辨证诊断

对心衰的辨证分型主要参考《慢性心力衰竭中医诊疗指南(2022年)》<sup>[11]</sup>和《中药新药临床研究指导原则:试行》<sup>[12]</sup>。(1)气虚证。主症:气短、乏力、心悸;次症:活动易疲劳、自汗、懒言或面白少华;舌象:舌质淡或淡红。(2)阳虚证。主症:畏寒、肢冷、脘腹或腰背发凉;次症:困倦嗜睡、喜热饮、小便不利、浮肿或胸腹水;舌象:舌质淡、舌体胖或有齿痕、苔白或白滑。(3)气阴两虚证。主症:面浮、肢肿、气短、心悸、胸部闷痛、倦怠乏力;次症:小便短少、自汗、畏寒肢冷等;舌象:舌淡苔白。具备2项主症,或1项主症及2项次症,即可辨证。

### 1.6 统计分析

采用Prism 9.0进行统计分析和作图。计量资料用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。组内比较采用单因素方差分析,组间比较采用无校正LSD检验。所有统计学检验均为双边, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠自然状态和一般体征

造模结束后,空白对照组大鼠无死亡,精神状态活跃,被毛整齐有光泽,饮食与二便正常。DOX心衰

模型组共造模成功 17 只,造模成功率 56.7%;大鼠精神萎靡,身体蜷缩,活动量减少,多聚集,被毛疏松、无光泽,食量和饮水量均减少,水肿明显。高血压心衰模型组共造模成功 19 只,造模成功率 63.3%;前期大鼠被抓时反抗剧烈、易激惹,后期出现精神不振、蜷卧少动,尿多等现象。ISO 心衰模型组共造模成功 21 只,造模成功率 70.0%;可见大鼠心前区搏动明显增强,超声心动图提示心率加快,并出现呼吸频率增快、震颤、多汗、活动减少、身体蜷缩、嗜卧、体温下降、大便稀软现象。对造模成功的大鼠自然状态与一般体征进行统计,详见表 1。

## 2.2 各组大鼠的病理检测结果

**2.2.1 心脏病理检测结果** 空白对照组大鼠可见心肌组织结构正常,排列规则,无炎性细胞浸润,未见明显纤维素样改变。与空白对照组大鼠相比,DOX 心衰模型组可见心肌细胞水肿、肥大,部分肌纤维断裂、排列错乱,心肌间质炎性细胞浸润;高血压心衰模型组心肌细胞水肿、肥大,心肌纤维排列错乱,间质中可见大量炎性细胞浸润;ISO 心衰模型组缺血区心肌细胞坏死、排列错乱,炎性细胞增多。详见图 1—2。

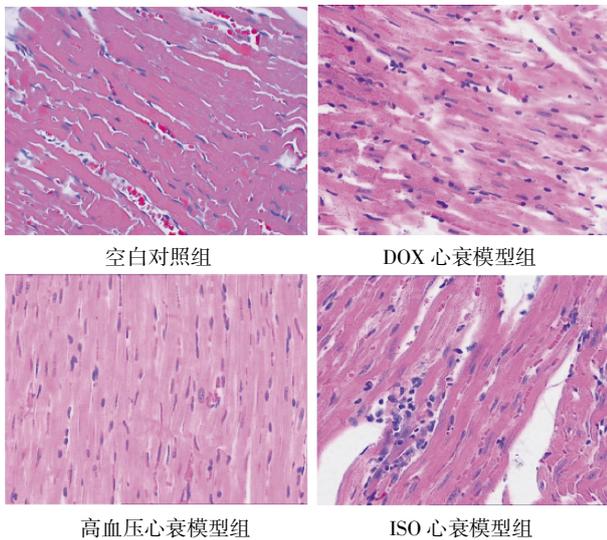


图 1 各组大鼠心脏 HE 染色图( $\times 400$ )

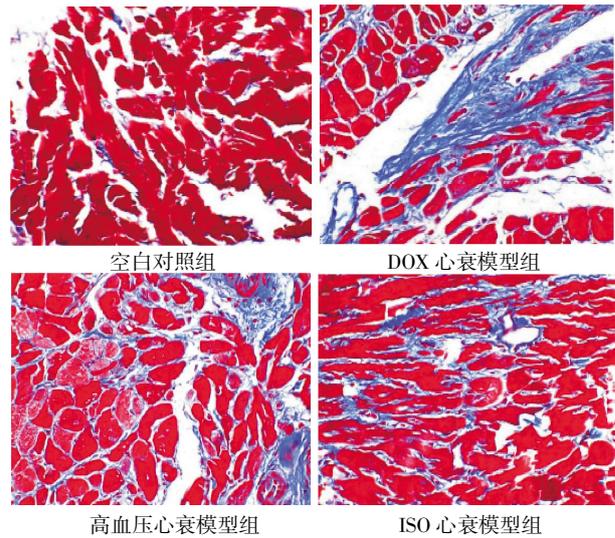


图 2 各组大鼠心脏 Masson 染色图( $\times 400$ )

与空白对照组比较,DOX 心衰模型组、高血压心衰模型组和 ISO 心衰模型组的 CVF 显著提高( $P<0.05$ ),提示 3 组心衰模型心肌纤维化程度增加。详见表 2。

表 2 3 种心衰大鼠模型的 CVF 比较( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	n	CVF
空白对照组	5	0.42 $\pm$ 0.01
DOX 心衰模型组	5	10.78 $\pm$ 3.61*
高血压心衰模型组	5	5.51 $\pm$ 0.49*
ISO 心衰模型组	5	4.54 $\pm$ 0.42*

注:与空白对照组比较,\* $P<0.05$ 。

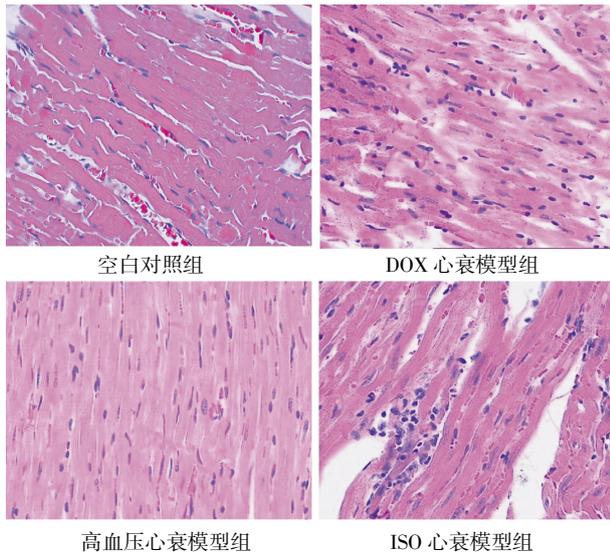
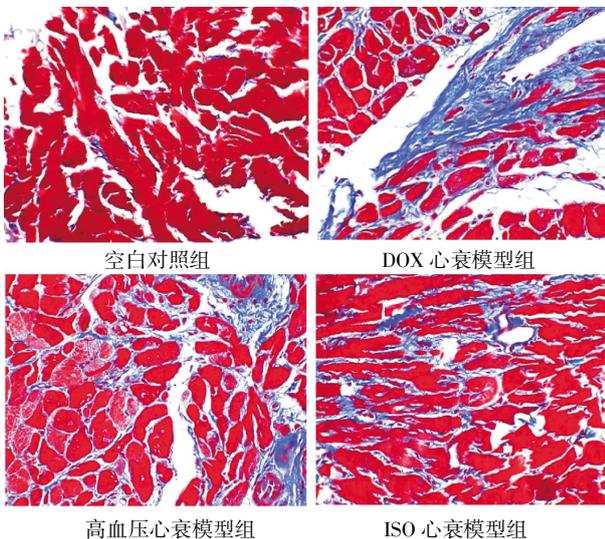
**2.2.2 肾脏病理检测结果** 空白对照组大鼠肾脏形态正常,肾小球数目正常,大小均一,毛细血管环完整。与空白对照组比较,DOX 心衰模型组肾脏近曲小管水肿、坏死,远曲小管严重水肿、坏死,肾小球固缩,结构不清。高血压心衰模型组肾小管细胞排列紊乱,肾小管上皮细胞水肿、减少、脱落,并伴有大量炎性细胞浸润,肾小球各类细胞分辨不清。而 ISO 心衰模型组肾脏未发现损伤。详见图 3。

**2.2.3 肝脏病理检测结果** 所有大鼠肝脏均排列整齐,未发现明显损伤。详见图 4。

表 1 各组大鼠自然状态和一般体征(只)

组别	n	活动量	饮食饮水	毛发	二便	精神状态	体温( $\bar{x}\pm s, ^\circ\text{C}$ )	水肿
空白对照组	10	多(10)	正常(10)	光泽(10)	正常(8)	活跃(9)	38.9 $\pm$ 0.1	无
DOX 心衰模型组	17	少(17)	减少(17)	枯槁(16)	便溏(14)	萎靡(17)	37.3 $\pm$ 0.2	重度
高血压心衰模型组	19	前期多,后期减少(18)	减少(15)	枯槁(16)	尿量前期增多,后期减少(14)	蜷卧少动(19)	38.7 $\pm$ 0.1	中度
ISO 心衰模型组	21	少(21)	减少(21)	枯槁(20)	便溏(18)	蜷缩嗜卧(19)	37.8 $\pm$ 0.1	轻度

注:括号中数字表示造模成功后的大鼠出现相应状态与体征的数量。

图3 各组大鼠肾脏 HE 染色图( $\times 200$ )图4 各组大鼠肝脏 HE 染色图( $\times 200$ )

### 2.3 各组大鼠的心功能比较

与空白对照组比较,DOX 心衰模型组及 ISO

心衰模型组 LVEF、LVFS、HR 降低( $P<0.05$ ),NT-proBNP 升高( $P<0.05$ );高血压心衰模型组 LVEF、LVFS 降低( $P<0.05$ ),NT-proBNP 升高( $P<0.05$ )。与 DOX 心衰模型组比较,高血压心衰模型组 LVEF、LVFS、HR 升高( $P<0.05$ ),NT-proBNP 降低( $P<0.05$ );ISO 心衰模型组 HR、NT-proBNP 降低( $P<0.05$ )。与高血压心衰模型组比较,ISO 心衰模型组 HR、NT-proBNP 降低( $P<0.05$ )。详见表 3。

### 2.4 各组大鼠的中医证候诊断

DOX 心衰模型组和 ISO 心衰模型组为阳虚证,高血压心衰模型组为气阴两虚证。详见表 4。

## 3 讨论

### 3.1 3 种心衰大鼠模型的造模特点

心衰是多种心血管疾病发生发展的共同结局,严重威胁人类的身体健康<sup>[13]</sup>。动物模型为研究某种疾病的发生、发展、病理生理、治疗及预后提供了支撑。虽然当前的心衰动物模型种类繁多<sup>[14]</sup>,但并非所有的动物模型都能很好地模拟心衰过程,其病理生理机制及造模成功后的症状、形态学、生化指标均与人类心衰有一定差距<sup>[15]</sup>。建立稳定而成熟的心衰模型,是开展心衰动物实验研究的关键前提。

DOX 作为一种广谱抗肿瘤化疗药物,具有严重的心脏毒性,会造成不可逆的心肌损害和心功能衰竭<sup>[16]</sup>。同时,DOX 诱导的心衰还可造成严重的肾脏损伤,引起水钠潴留<sup>[17]</sup>,这能解释本研究结果中 DOX 心衰模型组 NT-proBNP 值的升高。DOX 诱导的心肌损伤模型具有无创伤、造模时间短的优点,但会引起心肌毒性、干扰水钠代谢、造成经肾脏代谢的激素升高,与实际心衰机制有差距<sup>[18]</sup>,此模型选择

表3 3种心衰大鼠模型的超声心动图比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	LVEF/%	LVFS/%	HR/(次/min)	NT-proBNP/(pg/mL)
空白对照组	10	83.6 $\pm$ 3.6	36.8 $\pm$ 4.1	318.6 $\pm$ 30.1	9.7 $\pm$ 2.0
DOX 心衰模型组	17	45.0 $\pm$ 5.1*	22.8 $\pm$ 3.6*	278.1 $\pm$ 15.5*	578.6 $\pm$ 102.6*
高血压心衰模型组	19	58.9 $\pm$ 5.7*#	28.0 $\pm$ 3.6*#	305.8 $\pm$ 25.6#	396.0 $\pm$ 36.4*#
ISO 心衰模型组	21	52.0 $\pm$ 6.5*	24.8 $\pm$ 4.1*	258.5 $\pm$ 17.8*#▲	141.0 $\pm$ 37.5*#▲

注:与空白对照组比较,\* $P<0.05$ ;与 DOX 心衰模型组比较,# $P<0.05$ ;与高血压心衰模型组比较,▲ $P<0.05$ 。

表4 3种心衰大鼠模型的中医证候判断

组别	病位	病性	四诊表现	证候分型
DOX 心衰模型组	心、肾	阳虚	呼吸困难、严重水肿、行动迟缓、体温下降	阳虚证
高血压心衰模型组	心、肾	气虚、阴虚	前期反抗剧烈、易激惹,尿量增多,后期精神不振、蜷卧少动、尿量减少并出现水肿	气阴两虚证
ISO 心衰模型组	心	阳虚	造模期间心跳加快、呼吸加快、震颤、多汗,造模成功后嗜卧、体温下降	阳虚证

应慎重。高盐饮食诱导的高血压心衰大鼠模型几乎与人类高血压心脏病心衰无异,均为长期高血压诱导的心肌损伤,但高血压也同样造成了严重的肾脏损伤,且造模时间久、饲养成本高。该模型特别适合高血压与心衰的诊断和药物研究。ISO为 $\beta$ 受体激动剂,长期使用可诱导心肌细胞纤维化和坏死,并导致心室重构<sup>[19]</sup>。ISO诱导的模型可模拟出交感兴奋性增高引起心衰的病理过程<sup>[20]</sup>,且只对心脏造成损伤,造模简单,比较适合单纯心衰的病理生理和药物研究。同时,由于肾脏功能完善,该模型尤其适合心衰后的水钠代谢研究,有助于理解心衰后出现水钠潴留的机制。研究者需根据模型特点谨慎选用适合自己研究领域的模型,避免因模型选择错误导致结果出现偏差。

### 3.2 3种心衰大鼠模型的中医证候评价

随着中医药现代化研究的不断深入,部分学者认为单纯西医手段干扰的疾病动物模型不能满足中医药基础研究的需要<sup>[21]</sup>。于是出现了中医证结合的模型制备方法。而这些造模方法通常将疾病造模和证候因素叠加,使“证”或“复合证”形成的单重或多重因素施加于稳定的疾病模型上,以模拟“证”和“复合证”的发生发展过程,有明确目标地建立某一证候模型或复合证候模型<sup>[22]</sup>。但本研究发现,不同造模方法与中医病因学说具有一定相似性,不同的病因可能会造成不同的疾病、不同的证型或复合证型。如果仅靠添加人为手段制备所需的证型,如剥夺睡眠制备气虚模型<sup>[23]</sup>、外界刺激制备肝郁模型<sup>[24]</sup>等,不仅违背科学性,也与临床实际不符。实质上,中医证候并不独立于疾病之外,西医的“疾病”与中医的“证候”也不是两个单独的个体,疾病发展过程本身就存在着中医证候的变化。本团队前期研究表明<sup>[25]</sup>,对同一种疾病的不同造模方法会呈现不同的病理表现和宏观表现,出现证候差异。

动物模型是否成功,最关键的是模型的整体状态与临床表现的一致性<sup>[26]</sup>。除了一般状态和体征的观察,心脏病理检测结果显示,3种心衰大鼠模型心肌细胞损伤、心肌纤维化明显。本研究选取心功能受损的标志物(LVEF、LVFS等)和心衰诊断的“金标准”NT-proBNP进行研究<sup>[27]</sup>。结果提示,3种心衰大鼠模型NT-proBNP值较空白对照组均升高,说明心衰造模成功。有研究表明,LVEF与中医证型具有显著相关性,LVEF越低,阳虚证可能性越大,阳虚的程度也越重<sup>[28-29]</sup>。本研究中,高血压心衰大鼠的LVEF

值高于其他两组模型,提示高血压心衰模型属于射血分数保留的心衰模型<sup>[30]</sup>,结合后期尿量减少、体温不变,说明高血压心衰大鼠不属于阳虚证。而DOX诱导的心衰和ISO诱导的心衰在造模结束后都出现精神萎靡、活动减少、身体蜷缩等症状,体温在造模后期也出现明显降低的状况,因而这两种模型则很可能是阳虚模型。前期基于“以方测证”的研究也表明<sup>[31-32]</sup>,DOX和ISO诱导的心衰模型通过参附注射液治疗效果更好,佐证了其阳虚的证候属性。而高血压心衰模型在应用参附注射液后病情加重,死亡率增高,用参麦注射液的大鼠的病情却显著改善<sup>[33]</sup>,说明该模型可能更贴近气阴两虚证。病理结果显示,DOX和高血压心衰模型都造成了肾脏损伤,所以二者的病位除了心还可能包括肾,并不是单纯的心衰模型,原因是若心气、心阳亏虚,不能温肾水,继而出现心肾不交。《素问·玉机真藏论篇》云:“五脏相通,移皆有次。五脏有病,则传其所胜。”国医大师邓铁涛<sup>[34]</sup>认为,“五脏皆致心衰,非独心也”,故心衰的发生与五脏密切相关。以往研究结果也显示<sup>[35]</sup>,心衰因肺循环、体循环不畅导致组织缺血缺氧,此时病变由心累及肾等相关脏腑。综上,本研究认为3种心衰大鼠模型中医证候各有不同,表现多样,涉及多个脏腑,证候属性并不单一。

## 4 结论

目前,心衰病证动物模型的研究形成了多元化的制备方法与评价体系,为病证的诊疗提供了实验依据。但在确定造模成功与否的客观评判指标上,未形成统一的标准,缺乏可反映“证”的特异性客观指标,特别是对于复合证候模型的建立并不严谨。因此,需要在疾病模型建立的基础上,通过实验观察、以方测证、检测微观指标等来加强对证候研究的探索,从而确立心衰模型的证候属性及复合证候属性。从事心衰的中医相关研究时,应遵循中医学的理论指导确定模型制备方法,结合自身研究的需求,谨慎选择较适宜的模型。未来,本课题组也将采用代谢组学、蛋白质组学等系统生物学技术进一步探究其证候本质。

## 参考文献

- [1] 崔振双, 田国祥. 2021 ESC 急性心力衰竭指南解读[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2022, 14(11): 1281-1287.
- [2] 张健, 张宇辉, 周蕾. 国家心力衰竭指南 2023(精简版)[J].

- 中国循环杂志, 2023, 38(12): 1207-1238.
- [3] 王 宙, 周 琳, 刘 洋, 等. 慢性心力衰竭的流行病学研究现状及其防治研究进展[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(8): 1022-1024.
- [4] PONIKOWSKI P, VOORS A A, ANKER S D, et al. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. *Revista Espanola De Cardiologia*, 2016, 69(12): 1167.
- [5] SAVARESE G, LUND L H. Global public health burden of heart failure[J]. *Cardiac Failure Review*, 2017, 3(1): 7-11.
- [6] 钟森杰, 李 静, 李 琳, 等. “以方测证”在中医证候模型研究中的应用述评[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(2): 48-50.
- [7] 雷玉凤, 郑 娟. 补中益气汤及升阳配伍对心衰大鼠心功能的相关性研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(1): 72-74.
- [8] 钟森杰, 李欣春, 李 杰, 等. 心气阴两虚证心力衰竭大鼠血浆代谢组学研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(9): 981-985.
- [9] 徐清斌, 熊爱琴, 杨龙玉, 等. 氧化苦参碱对充血性心衰大鼠心肌组织相关因子表达的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2018, 47(5): 568-573, 588.
- [10] 杨 梦, 胡志希, 李 琳, 等. 心气阴虚证心衰大鼠尿液代谢组学研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(1): 54-60.
- [11] 中华中医药学会慢性心力衰竭中医诊疗指南项目组. 慢性心力衰竭中医诊疗指南(2022年)[J]. 中医杂志, 2023, 64(7): 743-756.
- [12] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则: 试行[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- [13] 王 栋, 李 琳, 魏小棋, 等. 心力衰竭“毒”邪理论与中医药解毒治疗的研究进展[J]. 生物医学转化, 2022, 3(3): 15-21.
- [14] BALAKUMAR P, SINGH A P, SINGH M. Rodent models of heart failure[J]. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 2007, 56(1): 1-10.
- [15] RIEHLE C, BAUERSACHS J. Small animal models of heart failure[J]. *Cardiovascular Research*, 2019, 115(13): 1838-1849.
- [16] SHAO L, CAI X Y, ZHU H M, et al. TLR2 and TLR3 expression as a biomarker for the risk of doxorubicin-induced heart failure[J]. *Toxicology Letters*, 2018, 295: 205-211.
- [17] MATSUYAMA T, OHASHI N, AOKI T, et al. Circadian rhythm of the intrarenal renin-angiotensin system is caused by glomerular filtration of liver-derived angiotensinogen depending on glomerular capillary pressure in adriamycin nephropathy rats[J]. *Hypertension Research*, 2021, 44: 618-627.
- [18] 叶小汉, 吕洪雪, 吴锦波. 中药心康方对阿霉素诱导心力衰竭大鼠心肌胶原代谢的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2018, 47(2): 140-144, 177.
- [19] 林紫薇, 武柳君, 吴晖晖, 等. 基于TNF/NF- $\kappa$ B信号通路探讨枳实薤白桂枝汤减轻心肌梗死大鼠心肌损伤的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(18): 8-16.
- [20] 李妍怡, 李俊俊, 戈福星, 等. 心肌细胞损伤的体外模型研究新进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(13): 3257-3269.
- [21] 杜健强, 邓 强, 张彦军, 等. 骨质疏松症病证结合模型构建的研究进展与存在问题[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38 (10): 4839-4842.
- [22] 苏 珏, 赵宇曦, 朱炳睿, 等. 慢性心力衰竭大鼠中西医模型研究进展[J]. 国医论坛, 2022, 37(3): 75-78, 80.
- [23] 任建勋, 尹春园, 史雅红, 等. 睡眠剥夺复合冠状动脉左前降支结扎建立心力衰竭气虚血瘀证大鼠模型的评价[J]. 中医杂志, 2020, 61(5): 428-434.
- [24] 阮璐薇, 张鹏横, 黄睿婷, 等. 去势法联合慢性不可预知性温和应激法建立围绝经期综合征肝郁证动物模型的研究[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(1): 394-397.
- [25] 李云锋, 李 琳. 心力衰竭中医证候动物模型研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2021, 37(8): 188-190.
- [26] 杨 梦, 胡思远, 李 琳, 等. 基于“以方测证”探讨异丙肾上腺素诱导慢性心衰小鼠模型的中医证型及证候本质[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(2): 101-108.
- [27] 余怡婷, 谭荣廷, 杨 柳, 等. B型利钠肽在心衰应用的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2023, 50(3): 486-496.
- [28] 赵卫华, 刘 娜, 宋 娟, 等. 慢性心力衰竭的阴阳辨证与NT-proBNP及射血分数的相关性研究[J]. 光明中医, 2021, 36(4): 497-499.
- [29] 李星星, 吴 旸, 范宗静, 等. 慢性心力衰竭中医证型与左室射血分数相关性的Meta分析[J]. 中国医药导报, 2019, 16(21): 143-146, 150.
- [30] ADAMS V, ALVES M, FISCHER T, et al. High-intensity interval training attenuates endothelial dysfunction in a Dahl salt-sensitive rat model of heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2015, 119(6): 745-752.
- [31] 黄淑敏, 廖晓倩, 范星宇, 等. 基于“以方测证”理论探讨异丙肾上腺素诱导慢性心力衰竭大鼠模型的制备及中医证型[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(3): 368-375.
- [32] 梁 昊, 黄建华, 简维雄, 等. 参附注射液通过血管加压素逃避改善心衰大鼠水钠代谢[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(6): 57-62.
- [33] 李欣春, 梁 昊, 胡志希, 等. 高血压心衰大鼠证候本质及药物干预研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(8): 853-857.
- [34] 陶文祥, 郑朝阳, 孙海娇, 等. 国医大师邓铁涛从五脏相关学说论射血分数保留型心力衰竭[J]. 中医学报, 2020, 35(11): 2372-2375.
- [35] 郭美珠, 曾 洁, 庞亚飞, 等. 从五脏相关论治慢性心力衰竭[J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(2): 90-93.

(本文编辑 周 旦)