

本文引用: 叶嘉豪, 吴子政, 张 垚, 孟骊冲, 胡志希. 基于“以方测证”理论探讨腹主动脉缩窄术致慢性心力衰竭大鼠模型的中医证型[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(5): 787-794.

## 基于“以方测证”理论探讨腹主动脉缩窄术致慢性心力衰竭大鼠模型的中医证型

叶嘉豪, 吴子政, 张 垚, 孟骊冲, 胡志希\*  
湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

**【摘要】目的** 观察4种中药注射液对腹主动脉缩窄术(AAC)致慢性心力衰竭(CHF)大鼠模型的疗效差异, 基于“以方测证”理论探讨该模型的中医证候属性。**方法** 对100只SD大鼠行AAC, 另设15只为假手术组, 造模8周后验证CHF大鼠是否成模。将造模成功的68只AAC大鼠随机分为模型组、丹红注射液组、参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组和卡托普利组。丹红注射液组、参麦注射液组、参附注射液组和黄芪注射液组通过腹腔注射给予对应注射液6 mL/kg, 并灌胃生理盐水4 mL/kg进行干预; 卡托普利组每日灌胃卡托普利8.8 mg/kg, 并腹腔注射生理盐水6 mL/kg进行干预; 假手术组和模型组均腹腔注射并灌胃等量生理盐水; 每组干预15 d。给药结束后, 观察各组大鼠的一般情况; 采用超声心动图检测大鼠心功能; ELISA检测血清N末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、血管紧张素II(Ang II)、血管紧张素1型受体(AT1R)含量; 采用HE染色和Masson染色法检测心肌组织病理改变情况。**结果** 与假手术组对比, 模型组大鼠出现皮肤和毛发枯燥无光泽, 唇甲和腹部发绀、脱毛、易怒、活动能力下降等表现, 左室射血分数(LVEF)和左室短轴缩短率(LVFS)显著降低( $P<0.01$ ), 左室舒张末期内径(LVIDd)值、左室收缩末期内径(LVIDs)值、血清NT-proBNP、Ang II和AT1R含量、胶原容积分数(CVF)值显著升高( $P<0.01$ ), 心肌炎症浸润明显。与模型组比较, 丹红注射液组、参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组和卡托普利组的大鼠反应较为灵敏, 皮肤光泽度、唇甲和腹部颜色等均有所改善, LVEF值和LVFS值升高( $P<0.05, P<0.01$ ), LVIDd值、LVIDs值、血清NT-proBNP、Ang II和AT1R含量、CVF值降低( $P<0.05, P<0.01$ ), 心肌炎症浸润情况有所改善。与丹红注射液组相比, 参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组的LVEF值降低( $P<0.05$ ), LVIDd值、LVIDs值、血清NT-proBNP、Ang II和AT1R含量、CVF值升高( $P<0.05, P<0.01$ ), 心肌炎症浸润较严重。**结论** 丹红注射液可有效提高AAC诱导CHF大鼠模型的心功能, 降低炎症反应, 抑制神经内分泌的过度激活, 治疗效果优于其他3种注射液, 基于“以方测证”理论, 推测该模型的中医证型为心血瘀阻证。

**【关键词】** 腹主动脉缩窄术; 慢性心力衰竭; 以方测证; 丹红注射液; 参麦注射液; 参附注射液; 黄芪注射液

**【中图分类号】**R256.2

**【文献标志码】**A

**【文章编号】**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.05.002

## Exploring the TCM pattern in the rat model of chronic heart failure induced by abdominal aortic constriction based on the theory of "pattern identification by formula"

YE Jiahao, WU Zizheng, ZHANG Yao, MENG Lichong, HU Zhixi\*

Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

**【Abstract】 Objective** To observe the therapeutic differences of four TCM injections on the rat model of chronic heart failure

**【收稿日期】**2024-11-19

**【基金项目】**国家自然科学基金面上项目(82274412); 湖南中医药大学校级研究生创新课题项目(2023CX01)。

**【通信作者】**\* 胡志希, 男, 博士, 教授, E-mail: 515800272@qq.com。

(CHF) induced by abdominal aortic constriction (AAC), and to explore the TCM pattern attributes of the model based on the theory of "pattern identification by formula". **Methods** AAC was performed on 100 SD rats, with additional 15 rats assigned to a sham-operation group. Eight weeks after modeling, the successful establishment of the CHF rat model was verified. A total of 68 AAC rats with successful modeling were randomly divided into model group, Danhong Injection group, Shenmai Injection group, Shenfu Injection group, Huangqi Injection group, and captopril group. The Danhong, Shenmai, Shenfu, and Huangqi Injection groups were intraperitoneally injected with the corresponding injections of 6 mL/kg, along with intragastric administration of saline at 4 mL/kg for intervention. The captopril group received daily intragastric administration of captopril at 8.8 mg/kg, combined with intraperitoneal injection of saline 6 mL/kg for intervention. Both the sham-operation and model groups received equivalent volumes of saline via intraperitoneal injection and intragastric administration. Each group underwent a 15-day intervention period. After the administration period, the general conditions of the rats in each group were observed. Echocardiography was used to assess cardiac function. ELISA was employed to determine serum levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), angiotensin II (Ang II), and angiotensin type 1 receptor (AT1R). HE staining and Masson's trichrome staining were both utilized to examine pathological changes in myocardial tissue. **Results** Compared with the sham-operation group, the model group rats exhibited dull skin and hair, cyanosis of the lips, nails, and abdomen, hair loss, irritability, and reduced activity. Left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) significantly decreased ( $P<0.01$ ), while left ventricular internal diameter at end-diastole (LVIDd), left ventricular internal diameter at end-systole (LVIDs), serum levels of NT-proBNP, Ang II, and AT1R, as well as collagen volume fraction (CVF) significantly elevated ( $P<0.01$ ), with prominent myocardial inflammatory infiltration. In comparison to the model group, the Danhong, Shenmai, Shenfu, Huangqi Injection groups and captopril group demonstrated improved responsiveness, enhanced skin luster, and ameliorated cyanosis of the lips, nails, and abdomen. These groups exhibited increased LVEF and LVFS values ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), while LVIDd, LVIDs, serum NT-proBNP, Ang II, AT1R levels, and CVF ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ) decreased, with alleviated myocardial inflammatory infiltration. Compared with the Danhong Injection group, the Shenmai, Shenfu, and Huangqi Injection groups showed decreased LVEF values ( $P<0.05$ ) and increased LVIDd, LVIDs, serum NT-proBNP, Ang II, AT1R levels, and CVF ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), with more severe myocardial inflammatory infiltration. **Conclusion** The Danhong Injection effectively improves cardiac function, reduces inflammatory responses, and inhibits excessive neuroendocrine activation in the AAC-induced CHF rat model. Its therapeutic efficacy is superior to the other three injections. Based on the theory of "pattern identification by formula", it is hypothesized that the TCM pattern of this model corresponds to heart blood stasis pattern.

[**Keywords**] abdominal aortic constriction; chronic heart failure; pattern identification by formula; Danhong Injection; Shenmai Injection; Shenfu Injection; Huangqi Injection

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)是各种心脏结构或功能异常,心肌收缩能力下降,心排量不足,或同时伴有肺循环和体循环障碍的临床综合征,是各种心血管疾病的终末阶段<sup>[1]</sup>。根据《中国心血管健康与疾病报告 2023》显示,我国心血管病患者总人数已超 3 亿,其中 CHF 患者占 890 万<sup>[2]</sup>。CHF 具有高发病率、高死亡率、预后差的特点,已成为 21 世纪最重要的心血管病症之一,如何防治 CHF 是目前科研领域研究的重点和难点<sup>[3]</sup>。

CHF 动物模型能模拟人类 CHF 病理过程,有利于进一步研究其病因病机,为临床合理用药提供指导<sup>[4]</sup>。“以方测证”是指在辨证论治的原则下,根据

“有是证,用是方”的对应关系提出,是中医学辨别证候的重要研究手段,目前已被广泛应用在病证结合动物模型的研究中<sup>[5]</sup>。“以方测证”理论核心基础是方证对应关系,方证相应时药物才能发挥治疗效果,若用药与证候不符,则可能导致疗效不佳,甚至病情加重。“以方测证”基于以上逻辑基础,通过观察给药后出现的药效反应,逆向推断中医证候属性,该方法目前被广泛运用在病证结合动物模型的研究中<sup>[6-7]</sup>。本课题组前期研究发现,用不同造模方法构建 CHF 大鼠模型,其证型有所差异,而运用“以方测证”法能有效辨析 CHF 动物证候模型<sup>[8-12]</sup>。

腹主动脉缩窄术(abdominal aortic banding, AAC)

是通过人为对腹主动脉进行机械性缩窄,使心脏后负荷增加,心脏代偿性肥厚,最终导致 CHF。研究表明,该模型适合研究因压力负荷过大的心肌肥厚,尤其是研究从 CHF 代偿期转变为非代偿期的病理变化<sup>[13]</sup>。该造模方法具有手术操作简单、大鼠存活率高、成模率高等优势<sup>[13]</sup>,因此是一种较为理想的 CHF 动物造模方法,但目前缺乏对于该模型中医证候的相关研究,故本实验通过 AAC 构建 CHF 大鼠模型,对比丹红注射液(活血化瘀法)、参麦注射液(益气养阴法)、参附注射液(益气温阳法)和黄芪注射液(益气养心法)干预后的疗效差异,基于方药对应关系逆向推导该造模方法的大鼠证候模型,从而为构建 CHF 病证结合动物模型奠定基础。

## 1 方法

### 1.1 实验动物

115 只 8~10 周龄的雄性 SD 大鼠,体质量(280±20) g,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004,饲养于湖南中医药大学动物实验中心 SPF 级实验室,实验设计和实施依据湖南省实验动物条例和国家卫生研究院动物伦理使用指南,实验经湖南中医药大学动物实验伦理委员会批准(编号:HNUCM21-2403-57)。

### 1.2 主要试剂

参麦注射液、黄芪注射液(正大青春宝药业有限公司,批号:2110055、2103283,规格均为:10 mL/支);卡托普利片(重庆科瑞制药集团有限公司,批号:641003,规格:25 mg/片);参附注射液(华润三九药业有限公司,批号:251020664,规格:10 mL/支);丹红注射液(山东丹红制药有限公司,批号:23042009,规格:10 mL/支);N 端脑钠肽激素原(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)ELISA 试剂盒(湖南艾方生物科技有限公司,批号:AF20230719);苏木精分化液、苏木精蓝还原液、柠檬酸缓冲液(湖南艾方生物科技有限公司,批号:AFIHC019、AFIHC020、AFIHC009);血管紧张素 II (angiotensin II, ANG-II)、血管紧张素 1 型受体(angiotensin type 1 receptor, AT1R)ELISA 试剂盒(泉州科诺迪生物科技有限公司,批号:20241104012、20241030005)。

### 1.3 主要仪器

超声仪(深圳凯里科技公司,型号:SonoScape-S2N);洗板机(北京天利医疗器械技术开发中心,型号:988 型);酶标仪(深圳市辐射计生命科学有限公司,型号:RT-6100);包埋机(常州中威电子仪器,型号:BMJ-A)。

### 1.4 模型制备和评价

将 115 只大鼠随机分为 AAC 组(100 只)和假手术组(15 只),参考文献[13]将 AAC 组大鼠麻醉后,固定于仰卧位,在腹中剑突下方 1 cm 处切开,分层切开腹腔,于左肾静脉水平沿腹主动脉上方 1 cm 处可触及明显搏动感,钝性分离腹主动脉,将针尖磨平的 7 号注射器针头平行放于腹主动脉上,用 4-0 号手术缝线将腹主动脉与针头一同结扎,观察结扎处下方动脉搏动是否减弱,以及双肾是否缺血变白,缓慢抽针,逐层缝合。假手术组仅开腹并分离腹主动脉,不结扎腹主动脉。术后 3 d 对大鼠进行腹腔注射 5 万 U 青霉素。8 周后,观察 AAC 组大鼠的行为体征、超声心动图情况以及 NT-proBNP 水平,进行 CHF 模型验证。与假手术组比,若 AAC 组大鼠左心室收缩末期内径(left ventricular internal dimension in systole, LVIDs)和左心室舒张末期内径(left ventricular internal diastolic dimension, LVIDd)显著上升,视为心室异常扩大;左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)、左心室短轴缩短率(left ventricular fractional shortening, LVFS)显著下降,血清 NT-proBNP 显著增高,视为心功能失代偿性障碍。若均满足以上条件,则评定为 CHF 模型复制成功<sup>[14]</sup>。本实验造模结束后,造模大鼠 LVEF 和 LVFS 值降低,LVIDd、LVIDs 和 NT-pro BNP 含量升高,纤维化水平和炎性浸润程度较严重,判定 CHF 成模。

### 1.5 分组给药

将剩余成模的 AAC 组大鼠(68 只)随机分为模型组(12 只)、丹红注射液组(12 只)、参麦注射液组(11 只)、参附注射液组(11 只)、黄芪注射液组(11 只)和卡托普利组(11 只)。丹红注射液组、参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组大鼠每日腹腔注射对应注射液 6 mL/kg,并灌胃生理盐水 4 mL/kg<sup>[9]</sup>;卡托普利组每日灌胃卡托普利 8.8 mg/kg,并腹腔注射生理盐水 6 mL/kg<sup>[15]</sup>。假手术组、模型组均腹腔注

射和灌胃等量的生理盐水。本实验中药给药剂量遵循课题组前期研究基础,因中药注射液不宜久用,本实验参照课题组前期给药方法,连续给药 15 d<sup>[8-12]</sup>。

## 1.6 样本收集

麻醉后取大鼠血液和心脏组织标本,处死大鼠。取腹主动脉血,在 4 ℃下 3 000 r/min 离心 15 min (离心半径 10 cm)。随机将 3 只大鼠心脏用 4%多聚甲醛固定,其余大鼠心脏放-80 ℃冰箱保存。

## 1.7 指标检测

1.7.1 一般情况 观察各组大鼠一般情况,包括精神状态,皮毛光泽度,手足、口唇、舌质颜色和活动量等情况。

1.7.2 心功能 给药结束后,采用彩色超声心动图检测各组大鼠左心室长轴切面。检测大鼠 LVEF、LVFS、LVIDs 和 LVIDd 值,每只重复测量 3 次,取平均值。

1.7.3 血清 NT-proBNP、Ang-Ⅱ和 AT1R 含量 给药结束后,用异氟烷对大鼠进行麻醉,眼眶取血,4 ℃下 3 000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm),保留上清液,按照 ELISA 说明书测定 NT-proBNP、Ang-Ⅱ和 AT1R 含量。

1.7.4 心肌组织病理形态 给药结束后,进行样本收集,用多聚甲醛固定心脏后,进行 HE 染色和 MASSON 染色检测大鼠心肌组织病理形态。HE 染色:石蜡包埋,切片厚度为 3 μm。切片脱蜡至水,苏木精染色 3~5 min,盐酸水溶液分化后用氨水返蓝,乙醇梯度脱水,伊红染色液染色 5 min,脱水封片,最后用数字切片扫描仪采集图像,观察心肌组织的炎症、变性、坏死情况。Masson 染色:将厚度为 3 μm 的切片脱蜡至水,用重铬酸钾进行染色,60 ℃、30 min,铁苏木素染色 3 min,水洗后,丽春红酸性品红溶液浸染 5~10 min,放入磷钼酸水溶液浸染 1~3 min,放入苯胺蓝染液中 3~6 min,1%冰乙酸分化,透明封片,图像采集。

## 1.8 统计学分析

数据采用 SPSS 24.0 软件进行分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。两组间比较若数据符合正态分布和满足方差齐性,用独立样本 *t* 检验;若不满足正态分布,则用秩和检验。多组间比较,采用单因素方差分析

评估组间差异。以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠一般情况比较

模型组大鼠出现皮肤和毛发枯燥无光泽,唇甲和腹部发绀,脱毛,易怒,活动能力下降等表现;丹红注射液组、卡托普利组大鼠反应较为灵敏,皮肤和毛发有光泽,口唇、指甲、腹部逐渐红润,脱毛、易怒、活动能力下降等表现明显改善;黄芪注射液组、参附注射液组、参麦注射液组上述症状均有所改善,但改善程度低于丹红注射液组。

### 2.2 给药后各组大鼠心功能比较

与假手术组相比,模型组 LVEF、LVFS 显著降低( $P<0.01$ ),LVIDd、LVIDs 显著升高( $P<0.01$ );与模型组相比,丹红注射液组、参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组、卡托普利组 LVEF、LVFS 升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),LVIDd、LVIDs 降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ );与丹红注射组相比,参麦注射液组、参附注射液组和黄芪注射液组的 LVEF 降低( $P<0.05$ ),LVIDd、LVIDs 升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ );与参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组对比,卡托普利组的 LVEF 升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),LVIDd 和 LVIDs 降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。详见图 1、表 1。

### 2.3 各组大鼠血清 NT-proBNP、Ang Ⅱ和 AT1R 含量对比

与假手术组相比,模型组 NT-ProBNP、Ang Ⅱ和 AT1R 含量升高( $P<0.01$ );与模型组相比,丹红注射液组、参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组和卡托普利组 NT-proBNP、Ang Ⅱ和 AT1R 含量降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ );与丹红注射液组相比,参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组 NT-proBNP、Ang Ⅱ和 AT1R 含量升高( $P<0.05$ );与参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组相比,卡托普利组 NT-proBNP、Ang Ⅱ和 AT1R 含量降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。详见表 2。

### 2.4 各组大鼠 HE 染色结果

假手术组大鼠心肌组织结构基本正常,视野内心肌纤维排列整齐紧密,未见坏死、变形和炎症细胞浸润;模型组心肌组织结构重度异常,视野内大面积纤维化,心肌细胞排列紊乱,部分心肌细胞肥大,并

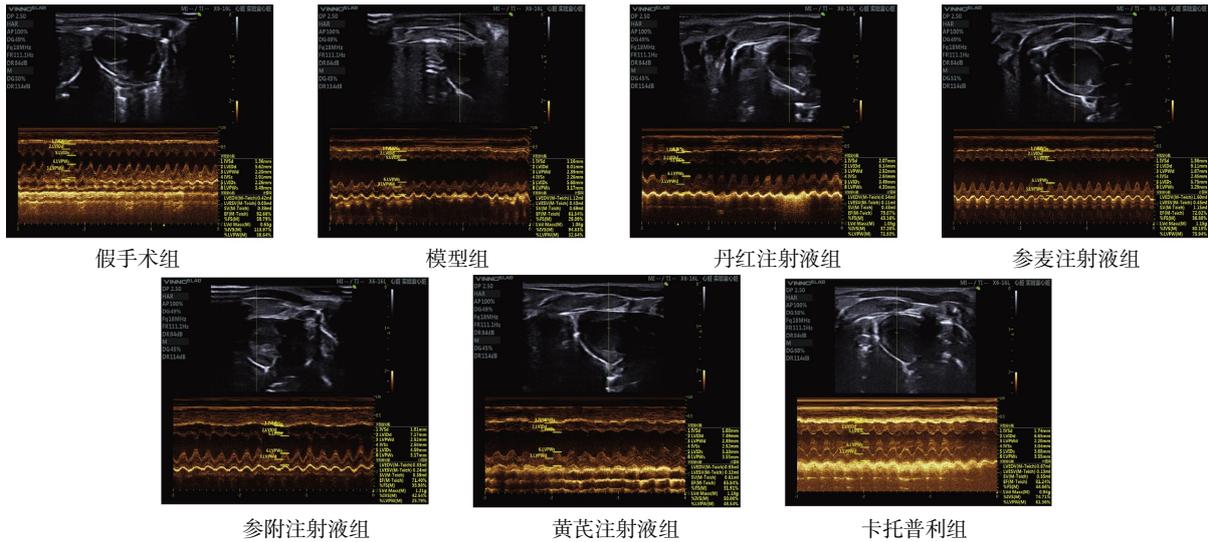


图 1 各组大鼠超声心动图情况

Fig.1 Echocardiographic profile of rats in each group

表 1 各组大鼠心功能结果比较( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 1 Comparison of cardiac function results among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	LVEF/%	LVFS/%	LVIDd/mm	LVIDs/mm
假手术组	91.19±3.01	57.88±5.19	6.25±0.37	2.82±0.37
模型组	64.63±3.62 <sup>##</sup>	32.65±4.21 <sup>##</sup>	8.01±0.80 <sup>##</sup>	5.32±0.23 <sup>##</sup>
丹红注射液组	79.30±4.06 <sup>##**</sup>	39.89±4.57 <sup>##**</sup>	6.78±0.65 <sup>*#</sup>	3.72±0.29 <sup>*##</sup>
参麦注射液组	72.49±3.41 <sup>##*^</sup>	36.00±3.81 <sup>*#</sup>	7.64±0.60 <sup>##*^</sup>	4.88±0.47 <sup>##*^</sup>
参附注射液组	73.59±5.14 <sup>##*^</sup>	36.53±2.95 <sup>*#</sup>	7.54±0.66 <sup>##*^</sup>	4.92±0.47 <sup>##*^</sup>
黄芪注射液组	71.66±4.54 <sup>##*^</sup>	35.12±3.78 <sup>*#</sup>	7.39±0.42 <sup>##*^</sup>	4.68±0.49 <sup>##*^</sup>
卡托普利组	80.41±3.42 <sup>##**&amp;&amp;★○○</sup>	41.10±4.15 <sup>##**</sup>	6.38±0.71 <sup>*#*&amp;&amp;★○○</sup>	3.50±0.61 <sup>*#*&amp;&amp;★○○</sup>

注:与假手术组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;与丹红注射液组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>^</sup> $P<0.01$ ;与参麦注射液组比较,<sup>&&</sup> $P<0.01$ ;与参附注射液组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;与黄芪注射液组比较,<sup>○○</sup> $P<0.01$ 。

表 2 各组大鼠血清 NT-proBNP、Ang II 和 AT1R 水平比较( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 2 Comparison of serum levels of NT-proBNP, Ang II, and AT1R among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	NT-proBNP/(pg/mL)	Ang II/(ng/L)	AT1R/(ng/L)
假手术组	326.23±39.44	361.99±39.08	157.55±5.98
模型组	772.12±37.62 <sup>##</sup>	534.31±16.86 <sup>##</sup>	211.45±20.11 <sup>##</sup>
丹红注射液组	588.24±67.35 <sup>##**</sup>	433.44±29.01 <sup>##**</sup>	169.53±14.95 <sup>*##</sup>
参麦注射液组	677.15±55.71 <sup>##*^</sup>	476.74±27.65 <sup>##*^</sup>	192.23±15.86 <sup>##*^</sup>
参附注射液组	668.55±46.06 <sup>##*^</sup>	480.22±15.75 <sup>##*^</sup>	184.77±17.23 <sup>*^</sup>
黄芪注射液组	680.33±75.40 <sup>##*^</sup>	466.95±18.79 <sup>##*^</sup>	188.26±16.94 <sup>##*^</sup>
卡托普利组	567.39±59.70 <sup>##**&amp;&amp;★○○</sup>	405.01±31.37 <sup>*#*&amp;&amp;★○○</sup>	162.16±9.55 <sup>*#*&amp;&amp;★○○</sup>

注:与假手术组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;与丹红注射液组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ;与参麦注射液组比较,<sup>&&</sup> $P<0.01$ ;与参附注射液组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;与黄芪注射液组比较,<sup>○○</sup> $P<0.01$ 。

伴随炎症细胞浸润(见黑色箭头);丹红注射液组和卡托普利组见少量心肌细胞变性,炎症细胞浸润程度较模型组明显减少;参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组大鼠心肌细胞排列较紊乱,伴有一定程度的炎症细胞浸润。详见图 2。

### 2.5 各组大鼠 Masson 染色结果

假手术组大鼠心肌纤维排列整齐,无明显胶原纤维沉积;模型组大鼠心肌细胞排列紊乱,胶原纤维区域增多(见橙色箭头);丹红注射液组胶原纤维区明显减少,纤维化程度明显减轻;黄芪注射液组、

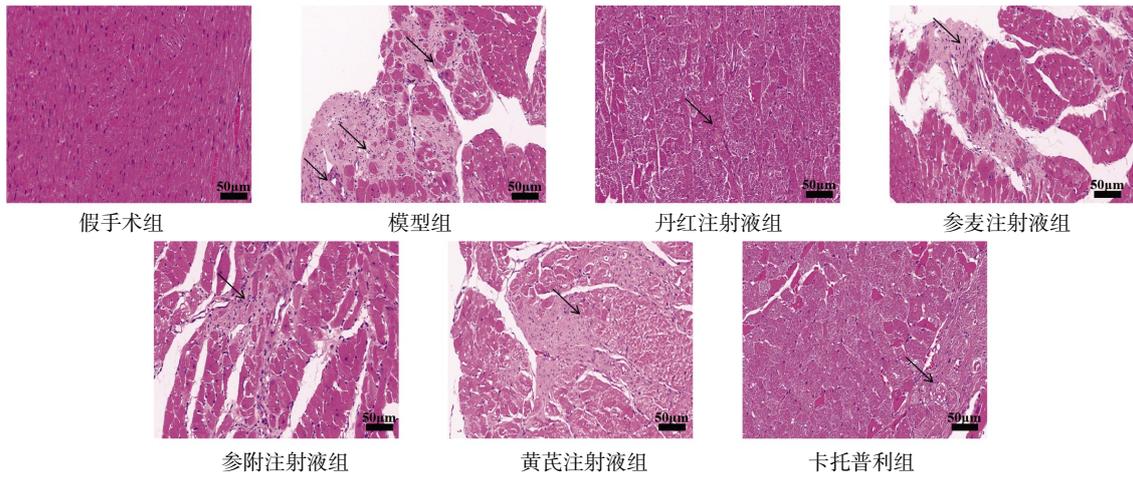


图 2 各组大鼠心肌病理情况(HE 染色, ×200, 标尺=50 µm)

Fig.2 Myocardial pathology in each group of rats (HE staining, ×200, scale=50 µm)

注:箭头表示存在炎症细胞浸润。

参附注射液组、参麦注射液组纤维化程度较严重,存在较多胶原纤维区域;卡托普利组纤维化程度明显减轻,细胞排列较整齐。与假手术组相比,模型组 CVF 值显著升高 ( $P<0.01$ );与模型组,丹红注射液组、参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组、卡托普利组 CVF 值降低 ( $P<0.05, P<0.01$ );与丹红注射液组相比,参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组 CVF 值显著上升 ( $P<0.01$ );与参麦注射液组、参附注射液组、黄芪注射液组对比,卡托普利组 CVF 值显著降低 ( $P<0.01$ )。详见图 3 和表 3。

表 3 各组大鼠心肌组织 CVF 比较( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 3 Comparison of CVF in myocardial tissue among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	CVF/%
假手术组	3.39±1.43
模型组	39.16±3.60 <sup>#</sup>
丹红注射液组	23.46±3.10 <sup>#**</sup>
参麦注射液组	31.69±2.93 <sup>#***^</sup>
参附注射液组	32.80±2.50 <sup>#**~</sup>
黄芪注射液组	31.62±4.96 <sup>#**~</sup>
卡托普利组	19.85±3.33 <sup>#**~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*</sup>

注:与假手术组比较, <sup>#</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;与丹红注射液组比较, <sup>~</sup> $P<0.01$ ;与参麦注射液组比较, <sup>^^</sup> $P<0.01$ ;与参附注射液组比较, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ ;与黄芪注射液组比较, <sup>oo</sup> $P<0.01$ 。

### 3 讨论

病证结合动物模型的稳定性和临床表现一致性,是开展动物实验研究的关键环节,其中四诊相关

信息是评价动物模型的重要体系,但大鼠四诊信息存在采集困难、评价标准尚未规范等问题,依靠正向

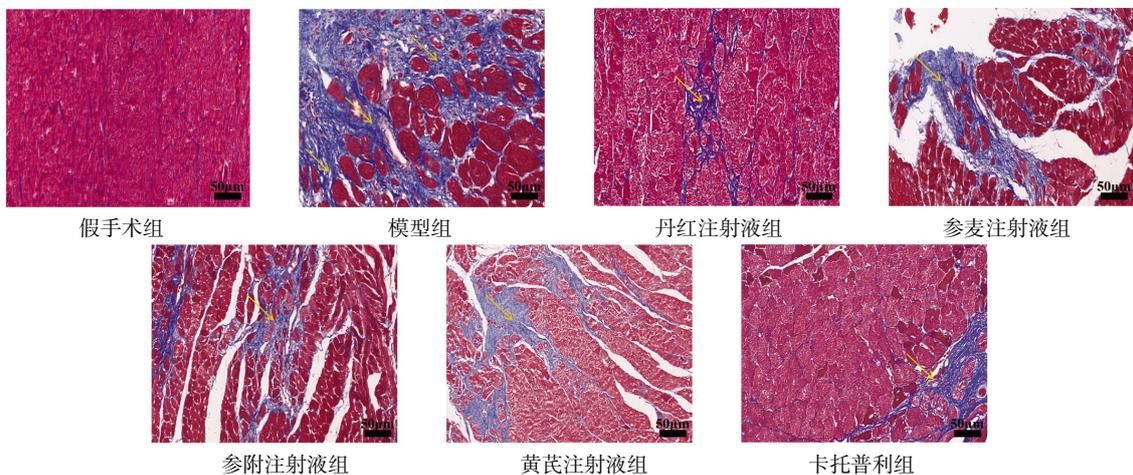


图 3 各组大鼠心肌组织纤维化情况(MASSON 染色, ×200, 标尺=50 µm)

Fig.3 Myocardial fibrosis in each group of rats (MASSON staining, ×200, scale=50 µm)

思维难以辨析其证型<sup>[16]</sup>。而“以方测证”法通过方药对应关系逆向推导大鼠模型,是检验“证”的最可靠途径<sup>[17]</sup>。其原理为采用不同药物对模型进行干预,观察模型症状的改善情况,从而根据其药物属性及功效逆向推导出中医证型,因此,“以方测证”能有效验证动物证候模型,该方法在研究中医证本质上被广泛应用<sup>[18-20]</sup>。本次实验选用造模方法较为成熟、成模率高、死亡率低、手术操作简单的 AAC 对大鼠进行造模。AAC 模型是将大鼠腹主动脉直径缩窄 50%~60%,从而增加外周循环阻力、增加心脏后负荷,该方法能较好地模拟 CHF 从代偿到失代偿阶段<sup>[21-24]</sup>。

本实验选用 4 种中药注射液进行干预,中药注射液的优点为药物浓度稳定、疗效确切,且有一定的研究基础,可避免汤剂因中药的剂量、质量和炮制等方面不同而出现疗效上的误差,增加实验研究说服力。依据《慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识》中提及的 4 种 CHF 基本证型(心气虚证、心血瘀阻证、心阳虚证、心气阴两虚证)为基础<sup>[25-26]</sup>,本实验设立与之基本证型相对应的 4 种中药注射液进行对照,观察 4 种中药注射液对心功能的改善效果,更精准地鉴别证型。经中药注射液干预后,与模型组相比,丹红注射液组 LVEF 和 LVFS 值显著上升,LVIDd、LVIDs 下降,NT-proBNP 水平显著下降,心肌炎症浸润情况显著改善,CVF 显著下降。说明丹红注射液能提高大鼠心肌收缩功能,减轻心肌肥厚、炎症以及心肌纤维化情况。研究表明,肾素-血管紧张素-醛固酮系统(the renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)的激活也是 AAC 致 CHF 的发病机制之一<sup>[27-29]</sup>。本实验研究表明,与假手术组相比,模型组大鼠血清 Ang II 和 AT1 的含量均显著升高,说明行 AAC 后,增加 Ang II 的生成,上调 AT1 受体水平,引起 RAAS 的过度激活;与模型组相比,丹红注射液组大鼠血清 Ang II 和 AT1 受体的含量均显著降低;说明丹红注射液能有效抑制 RAAS 的过度激活,减轻心脏负荷。而黄芪、参麦、参附注射液组对于心功能的改善程度低于丹红注射液组。

本研究发现,黄芪、参麦和参附注射液组对 AAC 诱导 CHF 的大鼠模型治疗效果低于丹红注射液组,其原因可能为其治法与证型不匹配,存在“药不对证”的情况,而活血化瘀法(丹红注射液)则对 AAC

模型 CHF 大鼠疗效显著,具体体现在该治法能改善心功能、减轻心室异常扩大、抑制 RAAS 过度激活、减轻心脏负荷、降低炎症和心肌纤维化水平等方面,基于“以方测证”理论,通过方药的疗效为主要依据,反向推测该大鼠的证型,推测该模型可能为心血瘀阻证。

CHF 的病理机制为本虚标实、虚实夹杂,而血瘀贯穿本病始终,为发病的核心因素<sup>[30-32]</sup>。《血证论·吐血》曰“瘀血化水,亦发水肿,是血病而兼也”。说明 CHF 的形成过程主要以血瘀为主,随后血瘀化水,形成水肿,水肿、血瘀以及气虚三者相互影响,形成恶性循环,不断加重病情,最终形成阴阳俱虚之证<sup>[33]</sup>。而现代中医学认为,“瘀”泛指由于痰浊、食滞、情志刺激、外伤等因素导致血液流行不畅<sup>[34]</sup>。本实验通过增加心脏射血时需要克服的血管阻力,给大鼠施加“瘀”的因素,进一步表明了造模方法与证候之间的关联性。

综上所述,本实验通过比较 4 种注射液治疗上的差异,侧面说明了精准治疗以及中医辨证论治在临床治疗上的重要性,也为日后研究中药注射液的联合用药或配伍机制阐明了探索方向。

## 参考文献

- [1] 谈宇权,张君宇,杨 梦,等. 异丙肾上腺素诱导慢性心衰模型不同方案的比较[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(2): 161-167.
- [2] 刘明波,何新叶,杨晓红,等. 《中国心血管健康与疾病报告 2023》概要(心血管疾病流行及介入诊疗状况)[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2024, 32(10): 541-550.
- [3] 国家卫生计生委合理用药专家委员会,中国药师协会. 心力衰竭合理用药指南(第 2 版)[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2019, 11(7): 1-78.
- [4] 钟森杰,李 静,李 琳,等. 心衰病证动物模型的研究现状述评[J]. 中国中医急症, 2021, 30(1): 179-181, 188.
- [5] 卢林竹,胡志希,李 琳,等. “以方测证”法在动物模型研究中的运用[J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(5): 570-573.
- [6] 钟森杰,李 静,李 琳,等. 证候动物模型的构建思路与评价方法述评[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 712-714.
- [7] 钟森杰,李 静,李 琳,等. 病证结合动物模型研究思路述评[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(8): 141-144.
- [8] 钟森杰,熊霞军,张 倩,等. 基于“方证对应”理论探讨主动脉弓缩窄致心力衰竭大鼠模型的中医证型与代谢标志物[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(16): 130-139.

- [9] 李欣春, 王菲, 赵振宇, 等. 基于“以方测证”探讨阿霉素诱导慢性心衰小鼠模型中医证候属性与鸢尾素表达特点[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(10): 74-79.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 郝永明, 郭磊, 周程辉, 等. 改良腹主动脉缩窄法建立心肌梗厚模型[J]. 解剖学报, 2024, 55(1): 120-124.
- [14] 钟森杰, 熊震军, 张倩, 等. 主动脉弓缩窄术建立心力衰竭大鼠模型的病理过程观察与非靶向代谢组学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(9): 117-124.
- [15] 熊震军, 胡思远, 钟森杰, 等. 基于 miR-378 探讨丹红注射液干预压力超负荷心力衰竭大鼠心肌纤维化机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(3): 383-390.
- [16] 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.
- [17] 彭丹虹, 王燕萍, 刘晓琪, 等. 中医病证结合动物模型评价体系的现状分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(8): 2027-2030.
- [18] 史振羽, 靳利利. 慢性心力衰竭动物模型的研究进展[J]. 实用心肺脑血管病杂志, 2012, 20(9): 1427-1429.
- [19] 巨少华, 陈欢, 魏江平, 等. 基于“以方测证”思路的治痹经方抗类风湿性关节炎大鼠的比较药理学研究[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(6): 4-7.
- [20] 王向红, 李佃贵, 张金丽, 等. “以方测证”验证化浊解毒对溃疡性结肠炎大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(9): 1056-1057, 1135.
- [21] 谭巍, 任澎. 腹主动脉缩窄法建立大鼠心衰模型的研究[J]. 实验动物科学, 2020, 37(3): 19-24.
- [22] 王瑞芳, 何昆仑, 杨泉, 等. 压力负荷诱导的大鼠舒张性心力衰竭模型的建立[J]. 中华保健医学杂志, 2009, 11(2): 92-95, 171.
- [23] 王建湘, 谭元生, 邓满霞. 温阳益气、活血利水法对慢性心衰患者 NT-proBNP 和心功能的影响研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(8): 1912-1914.
- [24] 朱林强, 周永焯, 谢晓明, 等. 大鼠腹主动脉缩窄术致大鼠慢性心衰的建模与体会[J]. 现代医院, 2015, 15(10): 21-24.
- [25] 陈可冀, 吴宗贵, 朱明军, 等. 慢性心力衰竭中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(2): 133-141.
- [26] 张一听, 张金兰, 郭秋红, 等. 人参强心滴丸对慢性心衰大鼠 Ang II 及其受体信号 PKC 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(2): 354-356.
- [27] 李永民, 王保和, 邢立强, 等. 和营安心方对慢性心衰大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 300-301.
- [28] 董晓蕾, 焦东东, 沈思钰, 等. 卡托普利对腹主动脉缩窄大鼠左室心肌血管紧张素 II-1 型受体及其 mRNA 表达的影响[J]. 四川医学, 2010, 31(8): 1044-1047.
- [29] 崔磊, 杨莹, 曹艺明, 等. 黄芪水蛭配伍对腹主动脉缩窄所致心衰大鼠的保护作用与机制探讨[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(9): 2139-2141.
- [30] 袁召, 姚淮芳, 张叶祥. 中医药治疗慢性心力衰竭研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(10): 1110-1112.
- [31] 夏健宁, 彭哲. 中医分期治疗心力衰竭的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(17): 2123-2125.
- [32] 张晓华, 刘淑荣, 尹雪. 心力衰竭中医病机及证候演变研究进展[J]. 中国中医急症, 2013, 22(10): 1747-1748.
- [33] 何庆勇. 《金匱要略》“血不利则为水”理论与顽固性心力衰竭的治疗[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(1): 120-122.
- [34] 李春燕, 寇兰俊, 王跃旗, 等. 黄芪保心汤治疗对心梗后心衰(气虚血瘀证)患者 LVEF、LVEDd、BNP 的影响[J]. 中国中医急症, 2020, 29(12): 2158-2161.

(本文编辑 田梦妍)