

张晓因,吴敏,孙长鑫,等. 基于病证结合探讨动脉粥样硬化瘀毒证的模型构建与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 98-105.

Zhang XN, Wu M, Sun CX, et al. Construction and evaluation of a model of atherosclerotic blood-stasis and toxic syndrome based on a combination of disease and syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(1): 98-105.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.01.012

基于病证结合探讨动脉粥样硬化瘀毒证的模型构建与评价

张晓因¹, 吴敏², 孙长鑫³, 陈纪烨¹, 李晓雅¹, 刘龙涛^{1*}

(1. 国家中医心血管病临床医学研究中心中国中医科学院西苑医院, 北京 100091;
2. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 3. 北京中医药大学研究生院, 北京 100029)

【摘要】 动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病的共同病理基础,建立具有中医瘀毒证候特色的动脉粥样硬化动物模型及客观规范的评价体系是现代心脑血管疾病研究的重要内容,对中医药防治心脑血管疾病基础研发及药效机制评价具有重要意义。本文通过对动脉粥样硬化瘀毒证的动物模型构建及评价进行了多方面的总结和归纳,同时分析了当前模型构建及评价存在的问题,以期建立规范化的动物模型提供参考。

【关键词】 动脉粥样硬化;瘀毒证;动物模型;病证结合

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 01-0098-08

Construction and evaluation of a model of atherosclerotic blood-stasis and toxic syndrome based on a combination of disease and syndrome

ZHANG Xiaonan¹, WU Min², SUN Changxin³, CHEN Jiye¹, LI Xiaoya¹, LIU Longtao^{1*}

(1. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Cardiology, China Academy of Chinese Medical Sciences, Xiyuan Hospital, Beijing 100091, China. 2. China Academy of Chinese Medical Sciences, Guang'anmen Hospital, Beijing 100053. 3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

Corresponding author: LIU Longtao. E-mail: liulongtao1976@126.com

【Abstract】 Atherosclerosis (AS) is a common pathological basis of cardiovascular and cerebrovascular diseases. Establishing an animal model of AS with the characteristics of blood-stasis toxin syndrome and a standardized evaluation system is an important part of modern cardiovascular and cerebrovascular disease research. This model and system are of great significance to research and development of traditional Chinese medicine for the prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases and the evaluation of drug efficacy mechanisms. This review summarizes and generalizes the construction and evaluation of animal models of atherosclerotic blood-stasis and toxic syndrome. The review

【基金项目】 国家自然科学基金(81973689, 82074254),北京市自然科学基金(7202176),首都卫生发展科研专项(2022-2-4172),国家中医药管理局青年岐黄学者支持项目。

Funded by National Natural Science Foundation of China(81973689, 82074254), Beijing Natural Science Foundation(7202176), the Capital Health Development Research Project(2022-2-4172), the Supported Project of Young Qihuang Scholars of the State Administration of Traditional Chinese Medicine.

【作者简介】 张晓因(1993—),女,博士,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。Email:dr_zxn@foxmail.com

【通信作者】 刘龙涛(1976—),男,主任医师,博士研究生导师,研究方向:中西医结合防治心血管疾病。

Email:liulongtao1976@126.com

further analyzes the problems existing with current model construction and evaluation to provide a reference for the establishment of standardized animal models.

[Keywords] atherosclerosis; blood-stasis and toxin syndrome; animal models; combination of disease and syndrome

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

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病的共同病理基础,而易损斑块的炎性反应及血栓形成的病理过程与中医“毒”和“瘀”致病特点极其相似,表现为瘀毒蕴结致使血脉闭阻不通,甚或灼伤血脉,故瘀毒致变被认为是动脉粥样硬化斑块破裂引起急性心血管事件发生的重要病机^[1]。瘀毒证作为心脑血管疾病的一种常见中医证型,属中医学“内毒”范畴,由“瘀”和“毒”两种基本元素组成^[2]。自 20 世纪 60 年代以来,在陈可冀院士带领下对血瘀证进行了系统规范的研究,制定了血瘀证的理化指标诊断标准。随着研究的深入及“瘀毒致变”理论的提出,瘀毒证的相关诊断及量化标准也被创立^[3-4]。然而,在疾病不同的证候研究中,发现各证型间使用了相同的造模方式,对模型评价也缺乏客观规范,这忽视了证候的针对性,造成重病轻证、有病无证、病证分割等不足^[5],也很难客观评价中医证候的药效及作用机制。病证结合的模型构建及评价是完善中医药辨证诊治规范的难点与重点,也是中医药客观化、标准化研究的迫切需要,更是实现中医药国际化的关键。迄今,病证结合的模型构建及评价初步形成并日趋成熟,但动脉粥样硬化瘀毒证的相关研究仍相对匮乏。因此,本文旨在对动脉粥样硬化瘀毒证的科学内涵、模型构建及评价进行梳理,以期对临床诊断及客观评价提供参考。

1 动脉粥样硬化瘀毒证的科学内涵

1.1 传统医学对瘀毒证的认识

中医学典籍中有关瘀毒的记载较少,“瘀毒”、“毒瘀”之名并未明确提出,有关描述也多作为病因和病理产物记载。瘀毒病因学记载最早可追溯至东晋时期张湛《养生要集》(原书已佚),后《医心方》转引:“百病横生……触其禁忌成瘀毒,缓者积而成,急者交患暴至”,指出了瘀毒有缓积急发的致病特点^[2,6]。《验方新编·痧变癆瘵》云:“毒瘀心包络,更加凶险,不待时日”,同样描述了瘀毒作为致病因素的急骤性和凶险性^[7]。纵观古籍文献,历代医家对“瘀毒”论述可将其归属于中医学“内毒”范畴,即认为由瘀化生而来,蕴结日久化毒。正如

《金匱要略·心典》曰:“毒,邪气蕴结不解之谓”,故血瘀内停日久、脏腑功能失调,气血运行紊乱,则致毒邪内生。瘀可化毒,而毒亦可致瘀,如王清任在《医林改错》中言:“温毒在内烧炼其血,血受烧炼,其血必凝”,提出了因毒致瘀理论^[8]。又如《圣济总录》曰:“毒热内壅,则变生为瘀血”,表明了毒从火化,炼血成瘀的因果转化关系。由此可见,“瘀”、“毒”两者既可独立致病,又可相互搏结,互为因果,形成恶性循环,致使疾病胶结固化,缠绵难愈。

1.2 现代医学对动脉粥样硬化瘀毒证的认识

现代医家认为瘀毒是由多种致病因素相互作用,造成病因错综复杂、胶着难愈、病势酷烈、病情凶险的一类病邪,其既是致病因素,也是病理产物^[9]。动脉粥样硬化发生发展过程中,斑块炎性及血栓形成病理与中医“瘀毒”致病特点相似^[1]。陈可冀院士团队认为,血瘀日久易化热生毒,瘀毒互结致使血行不畅更甚,诱导血管内皮炎症反应,促炎因子释放增加,伴随脂质代谢及代谢产物异常^[10],导致动脉粥样硬化及其斑块进展,故提出“瘀毒致变”理论是动脉粥样硬化斑块破裂导致急性心血管事件发生的关键病机^[1,11]。此外,王永炎院士团队对“毒”概念也进行了界定,认为“毒”系脏腑功能和气血运行失常致使体内病理产物不能及时排出,蕴积日久,损伤血脉,从而引发炎症级联过程^[12]。在坚持宏观辨证与微观研究相结合的原则下,学者们发现血瘀证与高脂血症密切相关,且常伴有全血黏度、血浆黏度、血小板聚集性增强、血栓形成、微循环障碍及血液流变学异常等病理变化^[13-14],而炎症介质水平增高、血管活性物质过度释放及细胞死亡等变化与传统中医学的毒邪密切相关^[13]。因此,动脉粥样硬化瘀毒证可能是一组以脂质代谢紊乱、炎症、血流动力学障碍及血液流变学异常为主要临床表现的综合证。

2 动脉粥样硬化瘀毒证模型的构建方法

近年来,通过单因素或多因素复合造模手段已构建出症状、病因、病理及病证结合四种动物模

型^[15-17]。中医证候动物模型以糖皮质激素诱导的阳虚证动物模型为开端,现虽已拥有上百种证候动物模型^[18],但在模型构建方面仍有诸多不足。病因模拟符合中医致病特点,但在造模过程中仍难以建立统一规范性的标准;病理造模操作简单、重复性较强,利用客观指标评价较易获取符合西医病理变化,但中医对病证的认识并非局限某一组织或器官的病理改变^[19]。病证结合通过多因素复合方式可建立成熟、稳定、实用的动物模型,是中医药现代研究的核心内容,是探索病理生理变化与中医证候演变规律的基础,也是探索中医药起效机制的关键。基于此,本文分别对血瘀证、热毒证及动脉粥样硬化瘀毒证模型建立进行了阐述。

2.1 单因素构建血瘀证或热毒证模型

血瘀证往往可由多种原因造成,结合对证候的病因病机认识及辨证要点,分别通过模拟寒凝、气虚、气滞及热毒等病因对实验动物进行干预,可使其成功建立具有血瘀证表征的模型。例如,寒凝血瘀证模型可采用低温冰柜($-15 \sim 20^{\circ}\text{C}$ 条件下约 1 ~ 4 h,至大鼠出现寒战停止,持续 2 周)^[20-22],或冷水浸泡($0 \sim 1^{\circ}\text{C}$ 冰水中 20 min,持续 2 周)^[19-21];气虚血瘀证模型可采用强迫游泳(恒温水槽中游泳约 15 min,或大鼠游至动作不协调且沉入水中 10 s 以上不浮出,持续 2 周)^[21,23],或采用睡眠剥夺(随机安排昼光夜暗常相光照、昼暗夜光反相光照、昼夜持续光照及昼夜持续黑暗,4 个过程为 1 个阶段,每个阶段采用低电压刺激使大鼠保持清醒状态 48 h,每个阶段 7 d,持续 6 周)^[21,24];热毒血瘀证模型可采用注射内毒素(小鼠首次尾静脉注射脂多糖 3 mg/kg,20 h 后腹腔注射脂多糖 4 mg/kg,隔日 1 次,持续 6 周,大鼠先腹腔注射角叉菜胶 2.5 mL/kg,8 h 后尾静脉注射 1 mL/kg 的脂多糖)方法^[21]。“毒邪”包括外来毒邪和内生毒邪。从中医学角度分析,脂多糖内毒素和角叉菜胶作为外来之毒注射于机体后可产生内源性的炎性因子等有害物质,体现了中医热毒的基本性质,是目前较为常用的一种模拟中医“内毒”的造模剂^[25-26]。然而,针对不同疾病的证候模型,所需的“内毒”造模剂种类及剂量可能也具有一定的差异。既往研究显示,通过给大鼠腹腔注射角叉菜胶 50 mg/kg,16 h 后尾静脉注射脂多糖 5 $\mu\text{g/kg}$,同样成功复制出热毒致瘀的病理模型^[25]。尚有研究显示,角叉菜胶和干酵母单用或联合均可诱导体内炎症因子水平升高,大鼠通过腹腔

注射角叉菜胶 50 mg/kg,每日 1 次,连续 3 d,第 4 日皮下注射 0.1%干酵母悬液 10 mL/kg 后也可复制出热毒证模型^[27]。

2.2 复合因素构建动脉粥样硬化瘀毒证模型

目前,有关动脉粥样硬化瘀毒证的动物模型构建尚未见报道。复合因素模型构建是采用多种中医致病因素与西医病理相结合的途径诱导病症结合的动物模型^[28],更符合西医临床病理及中医证候的病因病机特点,在基础研究中占据主流地位。使用载脂蛋白 E 缺陷株(apolipoprotein E^{-/-}, ApoE^{-/-})小鼠,通过每天定时放入气候箱(温度(6 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 25% ~ 32.8%)11 h 并给予高脂饲料喂养 12 周后,可成功建立出动脉粥样硬化秽浊痰阻证动物模型^[29]。因此,动脉粥样硬化瘀毒证动物模型即可选用动脉粥样硬化模型+瘀毒证模型的方法进行制备。

既往研究显示,采用高脂、高糖、高热量及维生素 D₃ 等方式喂养实验动物可建立动脉粥样硬化模型^[30],例如 ApoE^{-/-}小鼠通过高脂饲料喂养 8 周^[31]、低密度脂蛋白受体缺陷株(low density lipoprotein receptor^{-/-}, LDL-R^{-/-})小鼠通过高脂饲料喂养 12 周^[32],Wistar 大鼠通过喂食高脂饲料并注射维生素 D₃(600 000 IU/kg)持续 12 周^[33]、SD 大鼠高脂饮食和维生素 D₃(600 000 IU/kg)喂养 17 周^[34]、广西巴马小型猪通过采用 CRISPR/Cas9 技术使载脂蛋白 E 基因缺失并给予高脂高胆固醇喂养 6 个月均可成功复制出动脉粥样硬化模型^[35]。尚有研究显示,角叉菜胶和脂多糖两种因素联合(大鼠腹腔注射角叉菜胶 50 mg/kg,16 h 后尾静脉注射脂多糖 5 $\mu\text{g/kg}$)诱导出的模型,与临床常见的热毒血瘀证表现极其相似,具有更明显的血栓和血瘀表现^[25]。研究显示,单用或复合使用肾上腺素、内毒素、角叉菜胶和干酵母菌均能够诱导体内炎症因子升高^[27]。进一步通过肾上腺素/内毒素(大鼠皮下注射 0.01%肾上腺素溶液 0.8 mg/kg,每日 1 次,连续 14 d,第 15 日大鼠尾静脉注射 50 $\mu\text{g/kg}$ 脂多糖溶液)、角叉菜胶(大鼠腹腔注射角叉菜胶 50 mg/kg,每日 1 次,连续 3 d)、角叉菜胶/干酵母菌(大鼠腹腔注射角叉菜胶 50 mg/kg,每日 1 次,连续 3 d,第 4 天背部皮下注射 0.1%干酵母悬液 10 mL/kg)3 组药物分别干预构建瘀毒互结模型,发现角叉菜胶和干酵母菌两种因素叠加,前者可用于致“血瘀”证,后者引起的炎症反应模拟热毒状态,能较好

地构建瘀毒互结证动物模型^[27,36]。此外,采用物理或化学单因素方式诱导的血瘀证模型联合注射内毒素,也是构建瘀毒证模型的重要手段,未来值得进一步深入研究以期建立完善的动脉粥样硬化瘀毒证动物模型。

3 动脉粥样硬化瘀毒证模型评价体系的建立

目前,国内外尚无公认的动脉粥样硬化瘀毒证模型,其原因与中医致病因素的非特异性密切相关,一种或两种因素外源性地强加在动物身上,动物自身的反应不同不一定能够得到理想的证候^[37]。模型评价是验证病证模型构建成功与否的关键,西医理化检测不能说明证候问题,实验动物自身又无法完成主观感受的描述,且中医外观表征评估具有主观性,很难得到国际学者认可^[19]。因此,我们需要通过结合外在的宏观表征和微观的理化指标结果评估模型的制备效果,以期建立规范的符合中医特色及西医病理的评价体系。

3.1 瘀毒证宏观表征评估

“有诸于内,必形诸于外”,证候的外在表征是模型评价的内容之一。中医动物宏观表征可通过“四诊”采集,即通过动物的精神状态、皮毛色泽、五官症状及分泌物、饮食饮水量、大小便情况、体长及体重变化、舌质颜色、体温(肛温)及心率等间接评估^[18]。有学者提出,利用中医实验动物证候表征采集系统,通过对动物症状、体征进行量化评分来辅助分析可判定证候构建的程度^[22]。瘀毒致病以发热、烦躁、骤发性疼痛、颜面口唇及指(趾)青紫或暗黑、肌肤甲错,病势急,病情凶险等为特点^[38-39]。如发现模型动物口唇、耳廓、四肢末梢及尾部皮肤颜色暗淡变紫,可说明动物体内已出现血流不畅、微循环障碍,“毒邪”致病来势凶猛,发病急骤,传变迅速,故短时间内上述症状明显加重,可说明模型符合瘀毒互结证的特点^[18,36]。

3.2 血脂和动脉粥样硬化病变检测

血脂异常是动脉粥样硬化病变早期的重要指标之一,它会导致内皮细胞功能障碍、通透性增加,加重胆固醇聚集和脂质沉积,促进动脉粥样硬化的发生和发展^[40-41]。现代医学也认为血脂与中医瘀毒密切相关,且已有研究将总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(high density

lipoprotein cholesterol, HDL-C)检测用于模型评价^[21,37]。此外,致动脉粥样硬化指数(atherogenic Index, AI)通过计算血脂比 $[(TC-HDL-C)/HDL-C]$,反映评价动脉粥样硬化发生的程度,是衡量动脉粥样硬化程度的一个可靠指标^[42-43]。病理形态学变化也是确定动脉粥样硬化模型是否成功的重要手段,可通过大体油红O染色、主动脉根部HE染色及油红O等染色定量测量计算斑块面积及脂质百分比^[31,44]。

3.3 炎症指标分析

《金匱要略》曰:“毒,邪气蕴结不解之谓”,由脏腑功能和气血运行失常致使体内病理产物蕴积日久,损伤血脉,从而引发炎症级联反应^[12]。从现代医学角度分析,瘀毒证中的“毒邪”类似于炎症因子。研究表明,在不同疾病的病理过程中,各种炎症因子的致病作用与瘀毒证之间具有密切的相关性,可见血管炎症因子大量释放,促进白细胞激活和黏附,进而诱导血栓的形成^[45]。白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、IL-18、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、干扰素(interferon, IFN)- γ 及超敏C反应蛋白(high sensitive C-reactive protein, hs-CRP)等作为经典炎症因子,参与机体多项生理功能,是炎症的主要标志物^[46-47]。因此,IL-1 β 、IL-6、IL-18、hs-CRP、TNF- α 、IFN- γ 及中性粒细胞等指标常被用于评价炎症反应及相关程度^[17,45],其为评估瘀毒证模型提供参考依据。

3.4 血液指标检测

瘀毒损脉,阻遏气机,伤津耗液,导致血液流速和流量降低,并可造成全血黏度、血浆黏度增高,故血流动力学与血液流变学是反映机体血瘀证病理表现的重要指标^[48]。血液流变学检测包括全血比黏度(whole blood viscosity, WBV)、血浆比黏度(plasma viscosity, PV)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)及血小板聚集性(platelet aggregation, PAG)等,反映了血液的黏滞性、浓稠性、聚集性和凝固性^[21,49-50]。其中,纤维蛋白原也是重要的凝血因子,既往研究表明血瘀证多伴随着血小板异常和凝血功能改变^[21]。因此,凝血四项可能是瘀毒证微观病理变化的重要参数^[21-22]。学者们发现全血黏度及血流阻力增加往往会导致微循环障碍^[19],通过检测血管形态、血管管径及毛细血管数等可进行评价^[37,50]。血管形态的改变也会导致血管舒缩功能

异常和血管内皮受损,血管活性因子包括内皮素-1 (endothelin-1, ET-1)、血栓素 A₂ (thromboxane A₂, TXA₂)、血栓素 B₂ (thromboxane B₂, TXB₂)、血管紧张素 II (angiotensin II, AngII)、前列环素-2 (prostacyclin-2, PGI-2)、前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂)、一氧化氮 (nitric oxide, NO) 及降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 也常被用于检测^[21]。

3.5 多组学联合分析

代谢组学、基因组学及蛋白质组学领域的研究为中医现代化发展提供了新契机,在“四诊”宏观表征评价的基础上,利用代谢组学对实验动物的血浆、尿液等进行分析,观察动物内源性标志物的代谢变化为判定模型成功与否提供了可靠依据^[18,51]。既往蛋白质组学研究发现,脂多糖致热毒血瘀证大鼠模型的血清在双向电泳胶上 13 个蛋白点发生显著的含量变化^[52],冠心病血瘀证患者的血清蛋白质学研究发现,同种型高分子量激肽原 1 (kininogen 1, KNG1) 的前体和过氧化物还原酶-1 (peroxidoreductase-1, PRDX1) 是“因瘀致毒”病机转变的重要蛋白^[53]。代谢组学研究发现,心血瘀证大鼠模型至少有 19 个代谢物明显异常,涉及氨基酸代谢、脂类代谢和嘌呤代谢等通路^[54];热毒证大鼠的能量代谢相关酶也发生显著变化,涉及糖酵解蛋白酶、三羧酸循环蛋白酶和氨基酸代谢相关酶等^[55]。组学前期进行盲选所需样本量大且技术要求较高,有关动脉粥样硬化瘀毒证的组学标志物可在上述结果中进一步深入研究和验证以挖掘潜在的标志物。

4 动脉粥样硬化瘀毒证模型的构建与展望

动脉粥样硬化瘀毒证是两种不同医学模式下对同一现象的不同认识,随着中医药防治动脉粥样硬化的现代化研究与深入,符合中医临床瘀毒特色的动脉粥样硬化动物模型亟待构建与完善。病证结合模型以中医病因病机理论为指导,西医病理改变为基础,采用多因素复合造模手段将病与证结合于同一动物模型,符合临床先诊病后辨证的实际,且模型稳定性和可靠性较高,是构建动脉粥样硬化瘀毒证模型的重要策略。结合现代研究,动脉粥样硬化瘀毒证模型构建可以在较为成熟稳定的动脉粥样硬化模型基础上,施加瘀毒证干预因素,即通过采用高脂饲料喂养,联合角叉菜胶和脂多糖或干

酵母菌进行诱导,也可以通过诱导血瘀证模型的物理或化学方法联合注射内毒素进行构建。然而,动物品系体质差异、耐受及反应程度不同,针对不同体系、不同周龄的动物建立动脉粥样硬化瘀毒证模型,未来仍有必要进行更为细致深入的研究。

在中医药现代化医学模式下,多因素复合构建的病证结合动物模型融合了西医的发病机制和中医致病因素,现有的疾病模型和中医证候表现具有独特性。模型评价既往多依据西医病理改变为主,且目前缺乏统一规范的病证结合动物模型评价标准,附加因素是否改变了模型的原有病理基础,中医“证”的动态性及阶段性特征是否稳定,以及模型的可靠性和可重复性是否会降低,值得对动脉粥样硬化瘀毒证的生物学基础及动物模型进行系统研究和评估。结合当前研究现状,瘀毒证的宏观评价指标、血脂、致动脉粥样硬化指数、病理形态学、炎症相关因子、血流动力学、血液流变学、血管内皮功能及组学等指标可能是动脉粥样硬化瘀毒证的重要生化基础,可作为模型构建成功与否的内在参考依据。然而,如何对瘀毒证动物模型的宏观表征参数进行量化,实现四诊指标的规范化、客观化及标准化仍是我们今后所需共同努力解决的难点。总之,建立客观、规范的动脉粥样硬化瘀毒证动物模型及评价体系是中医药防治心脑血管疾病研究的重点,可突显中医药特色解决方案及助力中医药走向国际化。

参 考 文 献 (References)

- [1] 张京春, 陈可冀. 瘀毒病机与动脉粥样硬化易损斑块相关的理论思考 [J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(4): 366-368.
Zhang JC, Chen KJ. Theoretical thinking on relationship between toxic-stasis pathogenicity and atherosclerotic vulnerable plaque [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2008, 28(4): 366-368.
- [2] 钟霞, 焦华琛, 李运伦, 等. 瘀毒概念探微 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2377-2380.
Zhong X, Jiao HC, Li YL, et al. Exploration on the concept on stasis toxin [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(6): 2377-2380.
- [3] 徐浩. 血瘀证与活血化瘀研究热点与展望 [J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(6): 660-663.
Xu H. Research hotspot and prospect of blood stasis syndrome and activating blood and removing stasis [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2022, 42(6): 660-663.
- [4] 陈可冀, 史大卓, 徐浩, 等. 冠心病稳定期因毒致病的辨证诊断量化标准 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(3): 313-314.

- Chen KJ, Shi DZ, Xu H, et al. The criterion of syndrome differentiation and quantification for stable coronary heart disease caused by etiological toxin of Chinese medicine [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2011, 31(3): 313-314.
- [5] 杨清瑞, 胡泽玉, 杜晓泉, 等. 腹泻型肠易激综合征中医病证结合动物模型研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(12): 1981-1984.
- Yang QR, Hu ZY, Du XQ, et al. Review on disease and traditional Chinese medicine syndrome combined with animal model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. J Basic Chin Med, 2021, 27(12): 1981-1984.
- [6] 张海洋, 姚璠, 施维敏, 等. 基于“瘀毒”与血脂异常相关病症的关系探讨慢性疾病转归: 治未病理论的提出与思考 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(7): 65-68.
- Zhang HY, Yao F, Shi WM, et al. Discussion on outcome of chronic diseases based on relationship between “blood stasis and toxin” and dyslipidemia: proposal and thinking of preventive treatment of disease [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2021, 39(7): 65-68.
- [7] 薛丹, 张裕惠, 揭晓, 等. 从“瘀毒郁互结”探讨急性心脑血管事件伴抑郁的病因病机 [J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(3): 313-319.
- Xue D, Zhang YH, Jie X, et al. Discussion on etiology and pathogenesis of acute cardio-cerebrovascular events with depression based on “the combination of stasis-toxin-stagnation” [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2022, 45(3): 313-319.
- [8] 揭晓, 薛丹, 张海航, 等. 从“因郁致病”和“因病致郁”探讨冠心病的发病与治疗 [J]. 中医杂志, 2021, 62(23): 2102-2105.
- Jie X, Xue D, Zhang HH, et al. The pathogenesis and treatment of coronary heart disease from the theories of “disease caused by constraint” and “constraint caused by disease” [J]. J Tradit Chin Med, 2021, 62(23): 2102-2105.
- [9] 李圣耀, 冒慧敏, 薛梅, 等. 刍议瘀毒内涵及其在冠心病事件发生中的意义 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(9): 1126-1128.
- Li SY, Mao HM, Xue M, et al. Blood-stasis and toxin: connotation and significance in acute cardiovascular events [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2017, 37(9): 1126-1128.
- [10] 王安璐, 徐浩, 陈可冀. 从肠道菌群及其代谢物探讨冠心病瘀毒理论 [J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(4): 490-492.
- Wang AL, Xu H, Chen KJ. Exploration on theory of stasis toxic in coronary heart disease from gut microbiota and its metabolites [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2020, 40(4): 490-492.
- [11] 徐浩, 曲丹, 郑峰, 等. 冠心病稳定期“瘀毒”临床表征的研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(2): 125-129.
- Xu H, Qu D, Zheng F, et al. Clinical manifestations of “blood-stasis and toxin” in patients with stable coronary heart disease [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2010, 30(2): 125-129.
- [12] 李澎涛, 王永炎. 毒损络脉病机的理论内涵及其应用 [J]. 中医杂志, 2011, 52(23): 1981-1984.
- Li PT, Wang YY. Theoretical connotation and application of pathogenesis of toxic damage to collaterals [J]. J Tradit Chin Med, 2011, 52(23): 1981-1984.
- [13] 柳金英, 张惠敏, 田蕾, 等. “瘀毒”致心力衰竭心肌纤维化理论依据初探 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9): 4027-4030.
- Liu JY, Zhang HM, Tian L, et al. Theoretical research on ‘stasis-toxin’ in myocardial fibrosis of heart failure [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(9): 4027-4030.
- [14] 周子严, 薛晓琳, 李鑫, 等. 从痰瘀论治血脂异常的文献研究 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(4): 1485-1488.
- Zhou ZY, Xue XL, Li X, et al. Literature study on dyslipidemia based on phlegm and blood stasis [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(4): 1485-1488.
- [15] 钟森杰, 李琳, 胡思远, 等. 中医病因型证候模型建立的思考 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(2): 310-314.
- Zhong SJ, Li L, Hu SY, et al. Thoughts on establishment of etiological syndrome model in Chinese medicine [J]. J Basic Chin Med, 2022, 28(2): 310-314.
- [16] 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.
- Zhong SJ, Li J, Li L, et al. A review on the construction idea and evaluation method for syndrome animal models [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(3): 712-714.
- [17] 章晓云, 顾兵, 陈玉年, 等. 关于痛风性关节炎病证结合动物模型的思考 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36(11): 1490-1496.
- Zhang XY, Gu B, Chen YN, et al. Reflections on animal model integrated with disease and syndrome for gouty arthritis [J]. Chin Pharmacol Bull, 2020, 36(11): 1490-1496.
- [18] 任珍, 彭孟凡, 苗明三. 中医药动物模型评价方法的现状与思考 [J]. 中药药理与临床, 2020, 36(4): 219-222.
- Ren Z, Peng MF, Miao MS. The Current situation and consideration of animal model evaluation methods in traditional Chinese medicine [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2020, 36(4): 219-222.
- [19] 廖利, 赵兴桃, 王成, 等. 血瘀证模型研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(12): 7256-7260.
- Liao L, Zhao XT, Wang C, et al. Research progress of blood stasis syndrome model [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(12): 7256-7260.
- [20] 段练, 刘咏梅, 王阶. 血瘀证中医证候模型的现状与展望 [J]. 中医杂志, 2017, 58(4): 346-350, 353.
- Duan L, Liu YM, Wang J. Present situation and prospect of TCM syndrome model of blood stasis syndrome [J]. J Tradit Chin Med, 2017, 58(4): 346-350, 353.
- [21] 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.
- [22] 宋晓丹, 成秀梅, 周湘, 等. 寒凝血瘀证动物模型研究现状

- [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(15): 267-274.
- Song XD, Cheng XM, Zhou X, et al. Animal model of cold congeal and blood stasis syndrome: a review [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2022, 28(15): 267-274.
- [23] 罗慧, 焦文超, 王青, 等. 气虚血瘀型缺血性脑卒中动物模型建立与评价方法浅析 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(12): 6375-6377.
- Luo H, Jiao WC, Wang Q, et al. Establishment and evaluation of ischemic stroke animal model with Qi deficiency and blood stasis [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2020, 35(12): 6375-6377.
- [24] 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 JX, Lin CR, Liu JX, et al. Experimental study on Qi deficiency and blood stasis induced by Multi-factor stimulation in rats [J]. China J Chin Mater Med, 2011, 36(1): 72-76.
- [25] 黎同明, 邓敏贞. 脉络宁注射液对脂多糖与角叉菜胶诱导热毒血瘀证模型大鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 223-226.
- Li TM, Deng MZ. Effect of mailuoning injection on noxious heat stasis syndrome rat model induced by lipopolysaccharide in combination with carrageenan [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2013, 19(6): 223-226.
- [26] 王凤丽, 刘雪梅, 张允岭, 等. 缺血性脑卒中火毒证病证结合动物模型的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(6): 377-381.
- Wang FL, Liu XM, Zhang YL, et al. Establishment of disease-syndrome combination animal model of ischemia stroke-heat toxin syndrome [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2014, 37(6): 377-381.
- [27] 蒋成婷, 葛金文, 聂慧芳, 等. 缺血性中风瘀毒互结证病证结合动物模型研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(9): 69-74.
- Jiang CT, Ge JW, Nie HF, et al. Study on disease-syndrome combination animal model of ischemic stroke stasis toxin syndrome [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2020, 27(9): 69-74.
- [28] 王云姣, 张婉勤, 张军平, 等. 心气虚血瘀证动物模型的构建与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(3): 405-412.
- Wang YJ, Zhang WQ, Zhang JP, et al. Construction and evaluation of an animal model of heart qi deficiency and blood stasis syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(3): 405-412.
- [29] 古丽加玛力·尼亚孜, 安冬青, 李梅. 动脉粥样硬化秽浊痰阻证动物模型的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 265-269.
- Gulijiamali NYZ, An DQ, Li M. Study on establishing animal model of Huizhuo tanzu type atherosclerosis [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2013, 19(13): 265-269.
- [30] 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.
- Lin FX, Li L, Zeng ZC, et al. Research progress of atherosclerosis animal model and analysis of modeling thinking of combining disease and syndrome of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2019, 17(21): 3338-3342.
- [31] 彭立, 沈佳成, 王亚东, 等. 芪参益气滴丸对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化中调节性 T 细胞的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 907-910.
- Peng L, Shen JC, Wang YD, et al. Effects of Qishen Yiqi Dripping Pills on regulatory T cells in ApoE gene knockout mice with atherosclerosis [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(3): 907-910.
- [32] Zhai KF, Duan H, Shi Y, et al. miRNAs from plasma extracellular vesicles are signatory noninvasive prognostic biomarkers against atherosclerosis in LDLr^{-/-} Mice [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 6887192.
- [33] Zhang J, Liang R, Wang L, et al. Effects of an aqueous extract of *Crataegus pinnatifida* Bge. var. major N. E. Br. fruit on experimental atherosclerosis in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 148(2): 563-569.
- [34] Geng P, Xu X, Gao Z. Sinomenine suppress the vitamin D3 and high fat induced atherosclerosis in rats via suppress of oxidative stress and inflammation [J]. J Oleo Sci, 2021, 70(12): 1815-1828.
- [35] Fang B, Ren X, Wang Y, et al. Apolipoprotein E deficiency accelerates atherosclerosis development in miniature pigs [J]. Dis Model Mech, 2018, 11(10): dmm036632.
- [36] 彭珣, 李定祥, 马若梦, 等. 化瘀解毒方对缺血性中风瘀毒互结证模型大鼠脑细胞自噬及脑屏障通透性的影响 [J]. 中医杂志, 2022, 63(9): 862-868.
- Peng X, Li DX, Ma RM, et al. Effects of Huayu Jiedu formula on brain cell autophagy and blood brain barrier permeability in ischemic stroke model rats with binding of stasis and toxin syndrome [J]. J Tradit Chin Med, 2022, 63(9): 862-868.
- [37] 刘楠, 姜云耀, 李莹, 等. 气滞血瘀证动物模型研究现状 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 217-226.
- Liu N, Jiang YY, Li Y, et al. Current status of animal model research of qi stagnation and blood stasis syndrome [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2018, 24(1): 217-226.
- [38] 刘龙涛, 史大卓, 陈可冀. 心血管血栓性疾病“瘀毒”致病临床表征初探 [J]. 世界中医药, 2012, 7(2): 152-154.
- Liu LT, Shi DZ, Chen KJ. Preliminary study on clinical manifestations of blood stasis and toxin in cardiovascular diseases [J]. World Chin Med, 2012, 7(2): 152-154.
- [39] 中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会, 陈可冀, 徐浩, 等. 实用血瘀证诊断标准 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(10): 1163.
- Professional Committee of Activating Blood and Removing Stasis of Chinese Association of Integrative Medicine, Chen KJ, Xu H, et al. Practical diagnostic criteria of blood stasis syndrome [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2016, 36(10): 1163.

- [40] Li J, Yang Y, Jiao X, et al. The clinical role of angiopoietin-like protein 3 in evaluating coronary artery disease in patients with obstructive sleep apnea [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020, 34(6): 773-780.
- [41] Shi X, Xie X, Sun Y, et al. Paeonol inhibits NLRP3 mediated inflammation in rat endothelial cells by elevating hyperlipidemic rats plasma exosomal miRNA-223 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 885: 173473.
- [42] 赵玲, 魏海峰, 张丽, 等. 中医痰浊血瘀证候的生物学基础研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2008, 23(8): 680-683.
Zhao L, Wei HF, Zhang L, et al. Study on biological basis of phlegm and blood stasis syndromes in TCM [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2008, 23(8): 680-683.
- [43] 黄伦, 任泽萍, 赵俊康, 等. 应用因子分析和降秩回归评估膳食模式与血脂异常的关系 [J]. *现代预防医学*, 2021, 48(24): 4442-4446.
Huang L, Ren ZP, Zhao JK, et al. Evaluating relationship between dietary pattern and dyslipidemia using factor analysis and reduced rank regression [J]. *Mod Prev Med*, 2021, 48(24): 4442-4446.
- [44] 方岩, 张唯薇, 蒋梦婷, 等. 达格列净改善糖尿病动脉粥样硬化模型小鼠斑块的作用机制 [J]. *解放军医学院学报*, 2022, 43(2): 186-192, 198.
Fang Y, Zhang WW, Jiang MT, et al. Mechanism of dapagliflozin alleviating plaque in diabetic atherosclerotic model mice [J]. *Acad J Chin PLA Med Sch*, 2022, 43(2): 186-192, 198.
- [45] 杨威, 张学进, 郭勇. 热毒血瘀证与炎症相关性研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(10): 2168-2171.
Yang W, Zhang XJ, Guo Y. Research progress of correlation between toxic-heat-blood-stasis syndrome and inflammation [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2010, 28(10): 2168-2171.
- [46] 吴晶, 张君林, 汤琼, 等. 肠道菌群失调与原发肾小球疾病患者炎症反应及体液免疫的相关性 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(2): 220-223, 228.
Wu J, Zhang JL, Tang Q, et al. Study on the relationship between inflammatory reaction, humoral immunity and intestinal flora imbalance in patients with primary glomerular disease [J]. *J Pathog Biol*, 2022, 17(2): 220-223, 228.
- [47] 李思铭, 李金根, 徐浩. 从抑制炎症反应看中医药干预冠心病的新视角 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(4): 486-490.
Li SM, Li JG, Xu H. A new perspective of traditional Chinese medicine intervention in coronary heart disease from inhibiting inflammatory response [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2019, 39(4): 486-490.
- [48] 吕琴, 赵文晓, 王世军, 等. 黄芪活血功效及现代药理学研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(9): 215-224.
Lyu Q, Zhao WX, Wang SJ, et al. Effect of astragali *Radix membranaceus* in promoting blood circulation and its modern pharmacology research [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2020, 26(9): 215-224.
- [49] 陈可冀, 马晓昌. 关于传统血瘀证的现代分类 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2000, 20(7): 487.
Chen KJ, Ma XC. Modern classification of traditional blood stasis syndrome [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2000, 20(7): 487.
- [50] 姜晓西, 王凤, 张会永, 等. 气虚血瘀证动物模型研究现状 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 23(11): 68-74.
Jiang XX, Wang F, Zhang HY, et al. Research status of animal models of qi deficiency and blood stasis syndrome [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2021, 23(11): 68-74.
- [51] 陈德轩, 蔡红蝶, 宿树兰, 等. 中医病证相符的大鼠疮疡模型的建立及其血浆、尿液代谢组学研究 [J]. *中医药学报*, 2019, 47(1): 17-22.
Chen DX, Cai HD, Su SL, et al. Establishment of pyocutaneous model consistent with TCM syndrome in rats and its effect on plasma and urine metabolomics [J]. *Acta Chin Med Pharmacol*, 2019, 47(1): 17-22.
- [52] 谢文光, 马晓昌, 邵宁生, 等. 赤芍治疗热毒血瘀证的血清蛋白质组变化的初步研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2005, 25(6): 520-524.
Xie WG, Ma XC, Shao NS, et al. Preliminary study on change of serum proteome in noxious heat blood stasis syndrome treated by *Radix paeoniae Rubra* [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2005, 25(6): 520-524.
- [53] 尚青华, 徐浩, 史大卓, 等. 冠心病血瘀证“瘀毒”病机转变的蛋白质组学研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(22): 3825-3829.
Shang QH, Xu H, Shi DZ, et al. Proteomic study on pathogenesis of “blood-stasis and toxin” in patients with coronary heart disease and blood stasis syndrome [J]. *Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis*, 2021, 19(22): 3825-3829.
- [54] 周曼丽, 钱舒乐, 胡伊蕾, 等. 冠心病心血瘀阻证大鼠心肌代谢组学研究 [J]. *中医杂志*, 2022, 63(10): 968-975.
Zhou ML, Qian SL, Hu YL, et al. Myocardial metabolomics in rats with coronary heart disease and blood stasis obstruction syndrome [J]. *J Tradit Chin Med*, 2022, 63(10): 968-975.
- [55] 王凤丽, 刘雪梅, 傅晨, 等. 蛋白质组学技术分析缺血性脑卒中火毒证大鼠脑能量代谢相关蛋白 [J]. *北京中医药*, 2017, 36(7): 584-588.
Wang FL, Liu XM, Fu C, et al. Proteomic analysis of cerebral energy metabolism-related proteins of rats with cerebral ischemic stroke of heat-toxin syndrome [J]. *Beijing J Tradit Chin Med*, 2017, 36(7): 584-588.