

何志勇,李竣,王线,等. 大鼠下肢静脉曲张动物模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(12): 1556–1564.

HE Z Y, LI J, WANG X, et al. Establishment of a rat model of varicose veins of the lower limbs [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(12): 1556–1564.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.12.006

大鼠下肢静脉曲张动物模型的建立

何志勇¹, 李竣², 王线³, 陈丹丹², 全志文², 戴加伟², 黄先菊^{2*}

(1. 中南民族大学 实验教学与工程训练中心, 创新创业学院, 武汉 430074; 2. 中南民族大学 药学院, 武汉 430074; 3. 武汉润禾生物医药有限公司, 武汉 430040)

【摘要】目的 通过手术构建一种接近临床的大鼠下肢静脉曲张动物模型, 为评价药物治疗提供理论支持。**方法** SD 大鼠 30 只, 雌雄各半, 随机分为对照组和手术组。手术组采用改良的下肢静脉结扎手术对大鼠下肢静脉结扎(包括小隐静脉和股静脉), 即小隐静脉合并股静脉完全结扎手术, 形成血栓导致下肢深静脉内压持久升高, 从而引起下肢静脉曲张症状。手术组大鼠手术后第 6 周, 对大鼠静脉曲张进行评分, 评选出造模成功大鼠, 然后将造模成功大鼠随机分为模型组和迈之灵组。迈之灵组使用迈之灵 62.5 mg/kg 灌胃每日一次, 对照组和模型组每日给予等体积生理盐水灌胃, 连续 20 d, 给药前 1 d、给药后 7、14 和 20 d 时分别对大鼠小腿部位进行微距拍照、评分, 给药结束后模型组和迈之灵组取手术侧下肢踝关节以上大隐静脉约 1 cm 长, 对照组取相同侧下肢对应部位大隐静脉进行病理组织观察。组织包埋蜡块分成两份, 一份用于苏木素-伊红(HE)染色和马松(Masson)染色, 另一份用于免疫组化(immunohistochemistry, IHC)检查白细胞介素 2(interleukin 2, IL-2)和金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP-1)检测。**结果** 手术组 22 只大鼠, 有 20 只造模成功, 造模成功率为 91%。根据大鼠下肢小腿静脉扩张、曲张和红肿表现, 与对照组相比, 模型组静脉曲张评分增加, 具有显著性差异($P < 0.01$), 给予治疗剂量的迈之灵后, 与模型组相比, 迈之灵组静脉曲张评分减少, 具有显著性差异($P < 0.01$)。病理检查显示模型组可见明显的静脉曲张样改变, 有轻度炎症; 迈之灵组静脉曲张改变和炎症减轻。**结论** 成功建立了一种下肢静脉曲张大鼠模型, 为下肢静脉曲张疾病相关药物和治疗方法的研究提供了新的研究方法。

【关键词】 下肢静脉曲张; 动物模型; 迈之灵

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 12-1556-09

Establishment of a rat model of varicose veins of the lower limbs

HE Zhiyong¹, LI Jun², WANG Xian³, CHEN Dandan², QUAN Zhiwen², DAI Jiawei², HUANG Xianju^{2*}

(1. Experimental Teaching and Engineering Training Center and Innovation and Entrepreneurship College, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China; 3. Wuhan Runhe Biopharmaceutical Co., Ltd, Wuhan 430040, China)

Corresponding author: HUANG Xianju. E-mail: xianju@mail.scuec.edu.cn

【Abstract】Objective To construct an accurate clinical model of lower limb varicose veins in rats through surgery that provides theoretical support for evaluating drug therapy. **Methods** 30 SD rats, 15 males and 15 females, were randomly divided into a control group and surgical group. In the surgical group, the rats lower limb veins (including the small saphenous vein and femoral vein) were ligated via improved lower limb vein ligation, i. e., the small saphenous vein was completely ligated with the femoral vein, and the thrombosis resulted in a lasting increase in the internal pressure of the deep veins of the lower limb, causing varicose symptoms. On the 6th week after surgery, the varicose veins of the rats

【基金项目】 湖北省重点研发计划(2024BCA002, 2022BCA053)。

Funded by Key R&D Program Project of Hubei Province (2024BCA002, 2022BCA053)。

【作者简介】 何志勇, 男, 实验师, 学士, 研究方向: 民族药物有效性与安全。Email: 475543704@qq.com

【通信作者】 黄先菊, 女, 教授, 博士, 研究方向: 民族药物药理学和毒理学。Email: xianju@mail.scuec.edu.cn

in the surgical group were scored to select those that were successfully modeled. Then, the successfully modeled rats were randomly divided into a model group and Maizhiling group. Maizhiling 62.5 mg/kg was orally administered to the treatment group once a day, while the control and model group received an equal volume of physiological saline orally every day for 20 consecutive days. On the day before administration and 7 d, 14 d and 20 d after administration, macro photography and scoring were performed on the lower limbs of the rats. After completion, an approximately 1 cm long saphenous vein above the ankle joint of the lower limb on the surgical side was removed from the model group and Maizhiling group rats, while from the control group, the corresponding saphenous vein of the lower limb on the same side was removed. Pathological tissue observation was performed using HE staining, Masson staining, and immunohistochemical examination for interleukin-2 (IL-2) and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-1). **Results** Of the 22 rats in the surgical group, 20 were successfully modeled, with a success rate of 91%. According to the manifestations of venous dilation, varicose veins, and redness in the lower limbs of rats, the varicose vein score of the model group increased significantly compared with that of the control group ($P < 0.01$). After the therapeutic dose of Maizhiling was administered, the varicose vein score in the Maizhiling group decreased significantly compared with that of the model group ($P < 0.01$). Pathological examination showed significant varicose-vein-like changes and mild inflammation in the model group. The Maizhiling group showed reduced varicose veins and inflammation. **Conclusions** A rat model of lower limb varicose veins was successfully established, providing a new research method for the study of drugs and treatment method related to lower limb varicose diseases.

[Keywords] varicose veins of lower limbs; animal model; Maizhiling

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

下肢静脉曲张是指下肢浅静脉伸长、迂曲而呈曲张状态,多与静脉壁软弱、静脉瓣膜缺陷及遗传因素有关^[1]。长期站立、重体力劳动、妊娠、习惯性便秘、慢性咳嗽等因素导致下肢静脉压增高^[2],从而引起静脉迂曲、扩张及相应出现的一系列临床表现,其临床症状多为下肢静脉扩张、曲张、肿胀、皮肤瘙痒、色素沉着和溃疡等,严重影响患者的生活质量^[3]。虽然目前治疗下肢静脉曲张的方法多种多样,但在药物治疗有效性研究中,急需一种合适的下肢静脉曲张动物模型,建立下肢静脉曲张动物模型具有重要意义^[4]。

下肢静脉曲张疾病由于长期的静脉高压和血液蓄积可使静脉壁扩张、瓣膜受损,血管内皮细胞因静脉高压而受损,导致长期慢性炎症和产生较多的基质金属蛋白酶^[5]。炎症细胞因子依照其作用机制可分为促炎症细胞因子和抗炎症细胞因子,其中促炎症细胞因子包括白细胞介素 2 (interleukin 2, IL-2)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin 1, IL-1 β)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 和白细胞介素 8 (interleukin 8, IL-8) 等^[6]。研究表明金属蛋白酶组织抑制因子 (tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP-1)^[7] 广泛存在于人体组织与体液中,可由多种细胞因子例如 TNF- α 、IL-1 诱导生成,其作为基质降解抑制因子,在曲张静脉中表达增加。下肢静脉曲张患者血

清 TIMP-1^[8]、D-二聚体 (D-dimer)、IL-2 含量升高,联合检测上述血清指标可作为下肢静脉曲张患者筛查指标,对疾病的早期诊断具有一定临床价值,且血清 TIMP-1、D-二聚体 (D-dimer) 可反映患者疾病症状严重程度^[6]。

下肢静脉曲张模型在动物种类选择、造模方法、评分标准、成模时间、成模临床症状观察等方面都有待研究。本实验通过手术对大鼠下肢静脉结扎,形成血栓导致下肢静脉内压持久升高,从而引起下肢静脉曲张症状。再进一步采用临床治疗静脉曲张药物迈之灵检验模型是否成功,最终形成大鼠下肢静脉曲张模型的造模方法、评分标准、成模临床症状观察及药物有效性判断等方面参数标准。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SD 大鼠, SPF 级, 30 只, 雌雄各半, 由湖北省实验动物研究中心提供【SCXK(鄂)2020-0018】, 实验动物饲养于中南民族大学实验动物中心【SYXK(鄂)2021-0089】。动物手术开始的年龄范围约为 6 月龄; 体重: 雌鼠 300 ~ 360 g, 雄鼠 500 ~ 600 g, 且动物体重不超出平均体重的 20%。雌性动物须未育、未孕。实验动物分笼饲养于 SPF 级标准饲养间, 饲养室保持在常规温度 (22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 和空气湿度

(60 ± 10)%下,暗/明周期为 12/12 h。普通饲料喂养,进食、饮水自由。本研究实验内容和过程获中南民族大学实验动物伦理委员会的批准(2021-scuec-048)。

1.1.2 主要材料与仪器

异氟烷(批号:21040101,深圳市瑞沃德生命科技有限公司);注射用氨苄西林钠(批号:201221,华北制药集团动物保健品有限责任公司);0.9%氯化钠注射液(批号:201231803,武汉滨湖双鹤药业有限责任公司)。

照相机(型号:A6000,索尼(中国)有限公司);小动物麻醉机(型号:R500IE,深圳市瑞沃德生命科技有限公司);手术剪(批号:191201,上海医疗器械(集团)有限公司手术器械厂);眼科镊(批号:201901,上海医疗器械(集团)有限公司手术器械厂);持针器(批号:J32040,上海医疗器械(集团)有限公司手术器械厂);手术缝针(批号:YHJ-048,上海元洪医疗器械有限公司);3-0 医用真丝非吸收缝线(批号:20210423,扬州市金环医疗器械厂)。组织标本病理切片在武汉赛维尔生物科技有限公司完成。

1.2 方法

1.2.1 大鼠下肢静脉曲张造模方法

30 只大鼠适应性饲养 3 d,按照体重随机分为对照组 8 只,雌雄各半,其余 22 只进行手术。大鼠术前 12 h 禁食,不限饮水。异氟烷麻醉机麻醉,麻醉生效后常规备皮、消毒、铺巾。手术组采用小隐静脉合并股静脉完全结扎术构建静脉曲张模型,雌雄各半,造模后第 6 周对大鼠进行静脉曲张评分,评选出造模成功大鼠。小隐静脉合并股静脉完全结扎手术方法如下(结扎小隐静脉、股静脉为同一侧下肢进行手术):

小隐静脉完全结扎法:在小腿外侧即踝关节上方靠后 0.5 cm 处,找到小隐静脉,剪开皮肤,小隐静脉与周围筋膜结合紧密不易分离,且位置表浅,因此不必分离小隐静脉,确认位置后,可以将穿有 3-0 非吸收手术缝合线的手术缝针直接穿过小隐静脉下方并打结,注意手术缝针穿过的组织除小隐静脉外包含其他组织尽量少,逐层缝合皮肤,皮下洒少许注射用氨苄西林钠粉末;

股静脉完全结扎法^[9]:经大鼠腹股沟部斜切口,分开肌肉和筋膜,充分显露股静脉,腹股沟静脉下方穿过 3-0 非吸收手术缝合线并结扎,逐层缝合

肌肉和皮肤,肌肉及皮下撒少许注射用氨苄西林钠粉末^[10]。

所有实验大鼠术后保暖,保持环境温度在 25 ℃ 左右。单独饲养,麻醉清醒后少量饮水并给予食物。手术后一周内观察伤口生长情况有无感染,术后每周观察一次大鼠手术侧小腿外侧浅静脉。

1.2.2 临床观察

手术后,观察手术恢复情况;每周观察各组大鼠手术侧下肢浅静脉一次;在手术后第 6 周进行微距拍照,并观察下肢静脉曲张表现。分别于给药前 1 d(D0)、给药第 7 天(D7)、给药第 14 天(D14)和给药第 20 天(D20)对大鼠下肢小腿部位进行微距拍照和评分。

1.2.3 大鼠下肢静脉曲张评分量表

评估患者静脉曲张临床-病因-解剖学-病理生理(clinical etiology anatomy pathophysiology, CEAP)分级和静脉临床严重程度评分(venous clinical severity score, VCSS)是既往常用的下肢静脉曲张分级标准和评价方法^[5]。根据临床下肢静脉曲张 CEAP 分级中的 C 标准分级^[11],结合大鼠下肢静脉曲张模型临床表现,自制大鼠下肢静脉曲张评分量表,将大鼠下肢静脉曲张模型严重程度进行分级评分:包括 C0、C1、C2、C3 四大项,为 18 分制。单个下肢只能评每大项中对应表现的一项,各大项评分需叠加。完全正常 = 0 分,最严重 = 18 分(表 1)。评分时采用单盲设计,至少两名实验人员进行评定,每只大鼠需剃净观察部位毛发,观察两次,并取其平均值。术后 6 周,评分为 6 ~ 18 分的大鼠方可认为造模成功。未达标准者予以继续饲养,一月内如未达标准予以剔除并重新造模补入。

1.2.4 迈之灵对下肢静脉曲张模型大鼠的影响

手术后第 6 周,大鼠下肢静脉曲张分值 ≥ 6 为造模成功,随机将造模成功大鼠分为模型组和迈之灵组各 8 只,雌雄每组各取相等数量。术后第 6 周开始灌胃给药迈之灵,按照迈之灵临床剂量推算大鼠给药量为 62.5 mg/(kg·d),给药期间自由进食饮水,给药体积为 5 mL/kg,连续给药 20 d。模型组和对照组给等体积 0.9%的氯化钠注射液。

1.2.5 大隐静脉病理检测

给药第 20 天取模型组和迈之灵组大鼠手术侧下肢踝关节以上大隐静脉约 1 cm 长,对照组取同侧下肢对应部位大隐静脉约 1 cm 长,用 4%多聚甲醛固定 24 h,脱水后常规石蜡包埋,苏木素-伊红

表 1 大鼠下肢静脉曲张评分量表

Table 1 Lower limb varicose vein scoring scale for rats

分级 Grade of classification	大鼠下肢静脉曲张评分标准 Scoring criteria for varicose veins in the lower limbs of rats	评分/分 Score/points
C0: 无持久性扩张的皮下浅静脉 C0: Subcutaneous superficial vein without persistent dilation	-	0
C1: 毛细血管扩张, 持久性扩张的皮下浅静脉, 呈线状、丝状、网状 C1: Telangiectasia, persistent dilation of superficial subcutaneous veins, presenting as linear, filamentous, and reticular structures	小腿外侧肉眼可见表浅毛细血管, 呈线状, 丝状, 局部少量出现 Superficial capillaries are visible to the naked eye on the outer side of the lower leg, appearing in linear and filamentous shapes, with a small amount appearing locally	1
	小腿外侧肉眼可见表浅毛细血管, 呈线状, 丝状, 出现面积为小腿外侧一半左右或者布满小腿外侧, 但不连接成网 Superficial capillaries visible to the naked eye on the outer side of the lower leg are linear and filamentous, with an area of about half of the outer side of the lower leg or covering the outer side of the lower leg, but not connected into a network	2
	小腿外侧肉眼可见表浅毛细血管, 呈网状, 布满小腿外侧 Superficial capillaries are visible to the naked eye on the outer side of the lower leg, forming a network and covering the outer side of the lower leg	3
	小腿外侧肉眼可见表浅毛细血管扩张, 呈扭曲状, 较少, 局部一条或者一段血管出现 Superficial capillary dilation is visible to the naked eye on the outer side of the lower leg, appearing in a twisted shape with few, and one or a segment of blood vessels appearing locally	4
	小腿外侧肉眼可见表浅毛细血管, 呈扭曲状, 两条或者两条以上血管出现, 但未布满整个小腿外侧 Superficial capillaries visible to the naked eye on the outer side of the calf are twisted, with two or more blood vessels appearing, but not covering the entire outer side of the calf	5
C2: 静脉曲张, 是皮下浅静脉持久性扩张, 凸起, 扭曲状, 累及膝下隐静脉系统 C2: Varicose veins are persistent dilation, protrusion, and twisting of the superficial subcutaneous veins that extend to the subgenicular saphenous vein system	小腿外侧肉眼可见表浅毛细血管, 呈扭曲状, 较多, 布满整个小腿外侧 Superficial capillaries visible to the naked eye on the outer side of the lower leg are twisted and numerous, covering the entire outer side of the lower leg	6
	较轻, 红肿面积占整个小腿外侧小于三分之一 Mild, with less than one-third of the area of redness and swelling on the outer side of the entire calf	7
	明显较重, 红肿面积占整个小腿外侧一半左右, 在三分之一到三分之二之间 It is significantly heavier, with a redness and swelling area accounting for about half of the entire outer leg, ranging from one-third to two-thirds	8
C3: 红肿 C3: Red and swollen	严重, 红肿面积占整个小腿外侧三分之二以上 Severe, the area of redness and swelling accounts for more than two-thirds of the entire outer leg	9

(HE) 染色、马松 (Masson) 染色、免疫组化 (immunohistochemistry, IHC) 检查 IL-2 和 TIMP-1, 40 倍光学显微镜下观察。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计分析, 计量资料采用平均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 重复测量数据采用重复测量资料的方差分析, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

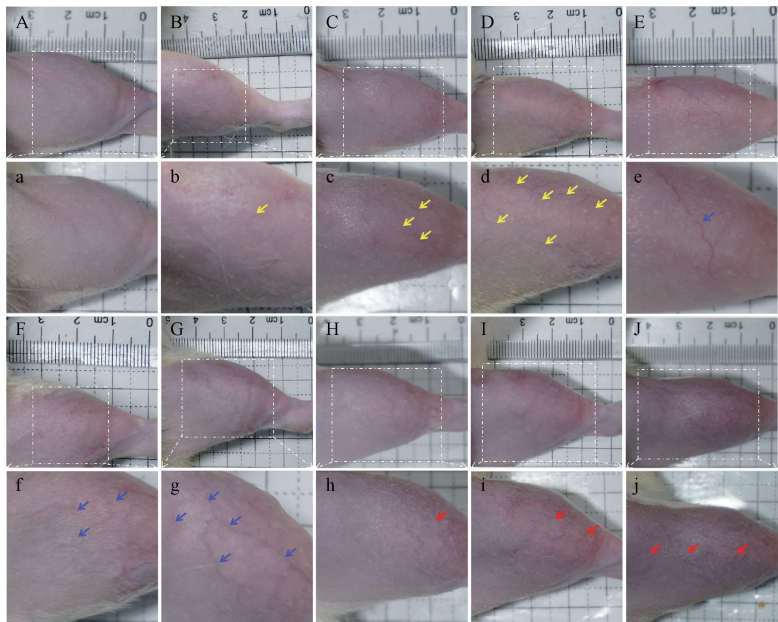
2.1 大鼠下肢静脉曲张临床表现

大鼠手术后开始出现下肢静脉曲张临床表现, 并随时间逐渐加重。图 1A 为正常大鼠小腿外侧(0

分), 为大鼠下肢静脉曲张评分量表 C0; 图 1B~1D 出现毛细血管扩张, 毛细血管扩张程度评分分别为 1、2、3 分, 为大鼠下肢静脉曲张评分量表 C1; 图 1E~1G 出现静脉曲张, 静脉曲张程度评分分别为 4、5、6 分, 为大鼠下肢静脉曲张评分量表 C2; 图 1H~1J 出现红肿, 红肿程度评分分别为 7、8、9 分, 为大鼠下肢静脉曲张评分量表 C3。每张图只评出其中一种典型表现。

2.2 造模成功率

术后第 6 周对手术组大鼠进行评分, 每只大鼠观察两次, 取其平均值。评分结果为 0~5 分的为 2 只, 6~9 分的为 6 只, 10~18 分的为 14 只。静脉曲张评分 6~18 的大鼠为造模成功, 造模成功大鼠



注:黄色箭头:静脉毛细血管扩张;蓝色箭头:静脉曲张;红色:表示红肿。

图 1 大鼠下肢静脉曲张模型临床表现

Note. Yellow arrow. Venous capillary dilation. Blue arrow. Varicose veins. Red arrow. Redness and swelling.

Figure 1 Clinical manifestations of rat lower limb varicose vein model

为 20 只,因此手术组造模成功率为 91%(表 2)。未造模成功的大鼠,可能需要成模的时间更久,或者跟个体差异和手术结扎部位的高低有关,后者需要重新手术。

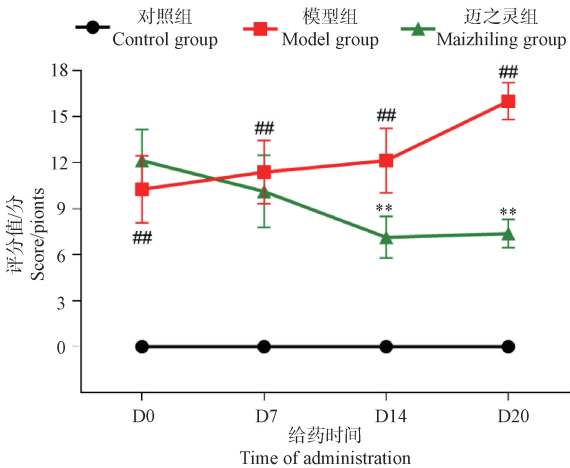
表 2 术后第 6 周手术组静脉曲张评分统计表		
Table 2 Statistical table of varicose vein scores in the surgical group at the 6th week after surgery		
静脉曲张评分范围	大鼠只数/只	百分比/%
Varicose vein scoring range	Number of rats/number	Percentage/%
0 ~ 5	2	9.1
6 ~ 9	6	27.3
10 ~ 18	14	63.6

2.3 迈之灵对大鼠下肢静脉曲张的影响

模型组与对照组相比,给药前大鼠下肢小腿外侧逐渐出现不同程度的毛细血管扩张、静脉曲张和红肿表现,并且随时间推移病程加重,到给药第 20 天时,毛细血管扩张、静脉曲张和红肿表现加重最明显,静脉曲张评分增加,具有显著性差异($P < 0.01$);迈之灵组与模型组相比,随给药时间增长静脉曲张症状被抑制,给药第 7 天无显著性差异,到给药第 14 天和第 20 天时,毛细血管扩张、静脉曲张和红肿表现明显减轻,静脉曲张评分减少,具有显著性差异($P < 0.01$)(图 2、3)。

2.4 大隐静脉病理变化

用 40 倍光学显微镜观察大隐静脉,可见 HE 染



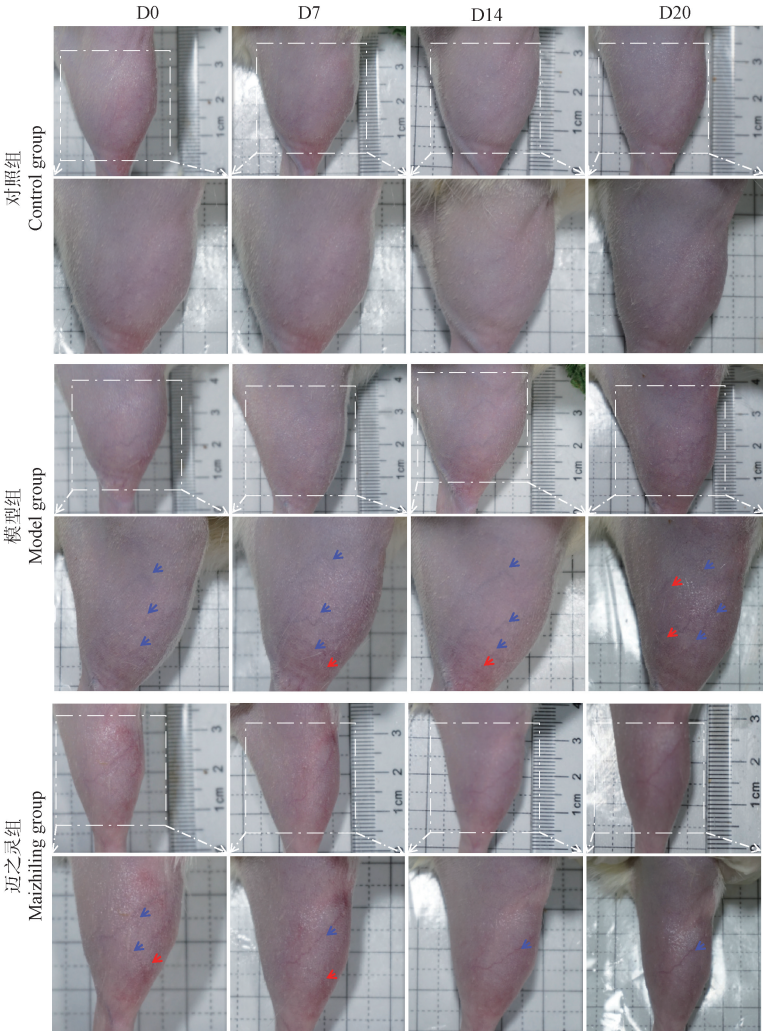
注:与对照组相比,## $P < 0.01$,与模型组比较** $P < 0.01$ 。

图 2 迈之灵对下肢静脉曲张模型大鼠静脉曲张评分影响($n = 8$)

Note. Compared with control group,## $P < 0.01$. Compared with model group,** $P < 0.01$.

Figure 2 Effect of Maizhiling on varicose vein score in lower limb varicose vein model rats ($n = 8$)

色对照组内皮细胞无明显坏死脱落,平滑肌结构清晰,排列规则;模型组静脉管腔增大,管壁变薄,血管壁厚薄不均,部分内皮细胞脱落缺失,平滑肌细胞结构不清,胞质淡染,可见平滑肌细胞增生、肥大,排列紊乱,出现大量泡沫细胞,迈之灵组管壁增厚,管腔较模型组变小,内皮细胞脱落不明显,少量



注：蓝色箭头：静脉曲张；红色箭头：红肿。

图 3 大鼠给药后临床表现

Note. Blue arrow. Varicose veins. Red arrow. Swollen area.

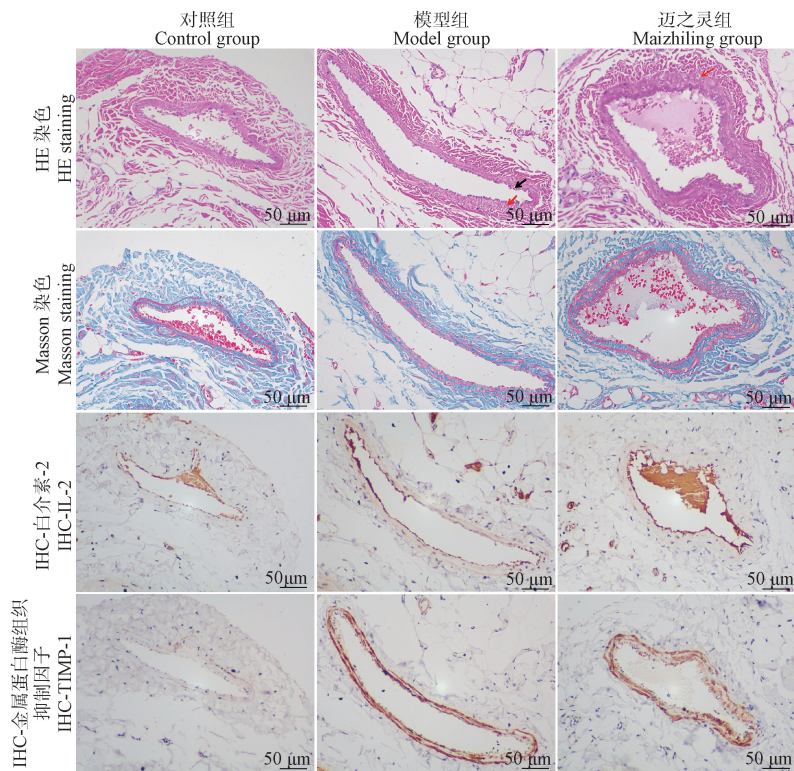
Figure 3 Clinical manifestations of rats after administration

散在泡沫细胞；Masson 染色对照组可见胶原纤维结构清晰，排列规则，胶原纤维分布于平滑肌细胞之间；模型组可见平滑肌细胞排列紊乱，细胞间胶原纤维聚集，排列倒错，粗细不均，红染的平滑肌、细胞结构丰富，蓝染的胶原纤维比例较对照组减少；迈之灵组较模型组胶原纤维有所增加。IHC 检查显示对照组和迈之灵组 IL-2 呈阴性反应，模型组呈弱阳性，对照组 TIMP-1 呈阴性反应，模型组呈强阳性反应，迈之灵组阳性表现较模型组弱（图 4）。

3 讨论

临床上下肢静脉曲张的发病机制复杂，通常可由年龄增大、肥胖、妊娠、重体力劳动、长久站立、吸烟、糖尿病、高血压和高胆固醇血症、静脉炎等多种

原因诱发^[13]，静脉壁薄弱、静脉瓣膜功能不全和静脉内压力增高是原发性下肢静脉曲张三大主要原因^[14]，文献研究表明下腔静脉结扎法^[15]和股静脉阻断法能有效形成下肢深静脉血栓^[16]，可导致下肢静脉内压力增高和皮肤病变^[17]，具有临床手术方法参考价值，但大多文献没有对实验继续观察，进一步研究动物下肢静脉曲张。本实验采用小隐静脉合并股静脉完全结扎手术，对大鼠下肢静脉结扎，能形成血栓导致下肢深静脉内压持久升高，有效形成持续性真皮内静脉扩张，逐渐淤血隆起，从而引起下肢静脉曲张症状，包括：小腿外侧皮下毛细血管扩张、静脉曲张和红肿等。本研究发现，对大鼠的小隐静脉和股静脉同时进行结扎，可以出现下肢静脉曲张症状。在对大鼠的股静脉进行结扎时，结



注:黑色箭头:脱落缺失的内皮细胞;红色箭头:泡沫细胞。

图 4 给药第 20 天大隐静脉病理组织学检查结果

Note. Black arrow. Lost of endothelial cell. Red arrow. Foam cell.

Figure 4 Results of histopathological examination of great saphenous vein on the 20th day of administration

扎位置的高低对手术成功率等有影响。结扎部位越高越靠近髂外静脉,结扎位置越低有可能会结扎在股静脉分支静脉之间,容易形成交通支,导致结扎阻断血流效果不强,这有可能是影响手术成功率的原因之一。因此,较优的方式是对大鼠的股静脉进行全结扎时结扎的位置相对靠近髂外静脉。

由于动物静脉曲张文献少有报道,结合临床下肢静脉曲张 CEAP 分级^[18]中 C 标准分级^[19],根据大鼠下肢静脉曲张模型临床表现,研究发现大鼠的下肢静脉曲张模型进展跟临床病人的进展分期 C0 到 C3 期非常相似,C4 到 C6 期由于药物治疗效果较差^[20],本实验并未研究观察,有待后期进一步研究。因此,将大鼠下肢静脉曲张模型严重程度进行分级评分:包括 C0、C1、C2、C3 四大项,形成了一套有效的拟临床动物模型评分标准。根据造模成功率结果显示,手术组成功率在为 91%,能成功形成下肢静脉曲张模型。

本研究中发现,与正常对照组相比,模型组大鼠手术侧下肢小腿外侧出现不同程度的毛细血管扩张、静脉曲张和红肿表现,并且随时间推移病程加重,静脉曲张评分增加;与模型组相比,迈之灵组

下肢静脉曲张症状有明显的抑制作用,静脉曲张评分减少。证明小隐静脉合并股静脉完全结扎术能有效导致大鼠下肢静脉曲张,迈之灵能有效减轻大鼠下肢静脉曲张症状。大鼠大隐静脉的 HE 染色和 Masson 染色结果显示,模型组较对照组组织结构改变明显,成功出现下肢静脉曲张长期静脉高压的病理改变,迈之灵组较模型组组织结构病理性改变有所减轻。大隐静脉免疫组化检查结果显示对照组和迈之灵组 IL-2 呈阴性,模型组 IL-2 呈弱阳性,可以反映出模型组炎症较对照组和迈之灵组重,有慢性炎症反应;模型组 TIMP-1 呈强阳性反应,迈之灵组阳性表现较模型组弱,能进一步反映出模型组下肢静脉曲张症状较重,而迈之灵组经过 20 d 治疗,下肢静脉曲张症状明显减轻。

综上,本研究成功建立了一种下肢静脉曲张大鼠模型。有效地解决了下肢静脉曲张模型实验方法、临床症状观察及评分标准等方面问题,为研究下肢静脉疾病发病机制及探索新的药物和治疗方式提供新的研究对象和基础依据。

参 考 文 献 (References)

[1] 张伟康. 四妙勇安汤加减联合激光腔内闭合术治疗下肢静脉

曲张临床研究 [J]. 实用中医药杂志, 2024, 40(4): 656-659.

ZHANG W K. Clinical study on the treatment of lower limb varicose veins with modified Simiao Yong'an Decoction addition and subtraction combined with laser intracavitary closure surgery [J]. J Practical Traditional Chin Med, 2024, 40(4): 656-659.

[2] 中国医师协会血管外科医师分会静脉学组. 常见静脉疾病诊治规范(2022 年版) [J]. 中华血管外科杂志, 2022, 7(1): 12-29.

Venology Group of Vascular Surgery Branch of Chinese Medical Doctor Association. Diagnosis and treatment standards for common venous diseases (2022 edition) [J]. Chin J Vascular Surg, 2022, 7(1): 12-29.

[3] 师龙, 高翔, 李锰, 等. 下肢静脉曲张患者生活质量量表评价研究 [J]. 血管与腔内血管外科杂志, 2022, 8(1): 27-30.

SHI L, GAO X, LI M, et al. Evaluation of quality of life scale for patients with lower extremity varicose vein [J]. J Vas Endovasc Surg, 2022, 8(1): 27-30.

[4] CAROLINE A, THOMAS K. Drug-based therapy of varicose veins from the perspective of experimental models [J]. Praxis, 2019, 108(01): 31-36.

[5] 中华医学会外科学分会血管外科学组, 中国医师协会血管外科医师分会, 中国医疗保健国际交流促进会血管外科分会, 等. 中国慢性静脉疾病诊断与治疗指南 [J]. 中华医学杂志, 2019, 99(39): 3047-3061.

Vascular Surgery Group of the Surgery Branch of the Chinese Medical Association, Vascular Surgery Branch of Chinese Medical Doctor Association, Vascular Surgery Branch of China Healthcare International Exchange Promotion Association, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of chronic venous diseases in China [J]. Natl Med J Chin, 2019, 99(39): 3047-3061.

[6] 朱雪峰, 俞士刚, 吴一峰. 血清金属蛋白酶组织抑制因子、白细胞介素 2 与白细胞介素 10 和 D-二聚体对下肢静脉曲张的诊断价值 [J]. 中国临床保健杂志, 2021, 24(5): 683-686.

ZHU X F, YU S G, WU Y F. The diagnostic value of serum TIMP-1, IL-2, IL-10 and D-dimer for lower extremity varicose veins [J]. Chin J Clinical Healthc, 2021, 24(5): 683-686.

[7] SCHOEPS B, FRÄDRICH J, KRÜGER A. Cut loose TIMP-1: an emerging cytokine in inflammation [J]. Trends in Cell Biol, 2023, 33(5): 413-426.

[8] 袁晓庆. 下肢静脉曲张血管重塑基质金属蛋白酶的表达水平及意义 [D]. 青岛: 青岛大学; 2022.

YUAN X Q. Expression level and significance of matrix metalloproteinase in vascular remodeling of varicose veins of lower extremities [D]. Qingdao: Qingdao University; 2022.

[9] 张静秋, 陆永萍, 他林昆, 等. 内皮损伤后血栓模型制备方法的比较 [J]. 昆明医科大学学报, 2024, 45(1): 35-40.

ZHANG J Q, LU Y P, TA L K, et al. Comparison of methods for generating thrombotic models after the endothelial injury [J]. J Kunming Med University, 2024, 45(1): 35-40.

[10] 谷艳, 臧鹏, 李进霞, 等. 基于超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱的深静脉血栓模型大鼠血浆代谢组学分析 [J]. 色谱, 2022, 40(8): 736-745.

GU Y, ZANG P, LI J X, et al. Plasma metabolomics in a deep vein thrombosis rat model based on ultra-high performance liquid chromatography-electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry [J]. Chin J Chromatography, 2022, 40(8): 736-745.

[11] 宋小军, 叶炜. 下肢静脉曲张病因、表现及治疗方法 [J]. 血管与腔内血管外科杂志, 2020, 6(5): 460-462.

SONG X J, YE W. Etiology, manifestations and treatment of varicose veins of lower limbs [J]. J Vascular Endovasc Surg, 2020, 6(5): 460-462.

[12] 袁宇航. 腔内激光与传统手术治疗原发性大隐静脉曲张的疗效对比研究 [D]. 南充: 川北医学院; 2021.

YUAN Y H. Comparative study on the efficacy of endovenous laser ablation and conservative surgery in the treatment of great saphenous vein varicosity [D]. Nanchong: North Sichuan Medical College; 2021.

[13] 王晓涛, 孟彬, 刘剑峰, 等. 超声引导泡沫硬化联合手术对下肢静脉曲张疗效及患者血流动力学 VCSS 评分炎症状态的改善作用观察 [J]. 中国药物与临床, 2020, 20(1): 15-19.

WANG X T, MENG B, LIU J F, et al. Effect of ultrasound-guided foam sclerotherapy combined with surgery on varicose veins of lower extremities and improvement of hemodynamics, VCSS score and inflammatory state [J]. Chin Remedies Clin, 2020, 20(1): 15-19.

[14] 陈晓玲, 郑多安, 郑漫漫. 下肢大隐静脉曲张的病因及改良手术治疗 [J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(11): 198.

CHEN X L, ZHENG D A, ZHENG M M. Etiology and improved surgical treatment of varicose veins of great saphenous vein of lower limbs [J]. J Prev Med Chin PLA, 2019, 37(11): 198.

[15] 冯涛, 李晶, 潘金强, 等. MiR-5189-3p 在下腔深静脉血栓形成的调控机制的研究 [J]. 临床外科杂志, 2021, 29(5): 478-481.

FENG T, LI J, PAN J Q, et al. Study on the regulatory mechanism of miR-5189-3p in deep venous thrombosis of lower extremities [J]. J Clinical Surg, 2021, 29(5): 478-481.

[16] 岳莹, 郝文立, 甘永康. 依那普利尿酸干预下肢静脉栓塞模型大鼠血管内皮细胞活性及血管紧张素 II、血管紧张素转换酶的表达 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(24): 3877-3882.

YUE Y, HAO W L, GAN Y K. Effects of enalapril folic acid on vascular endothelial cell activity and angiotensin II and angiotensin converting enzyme levels in a rat model of lower extremity venous embolism [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2023, 27(24): 3877-3882.

[17] 蒋玉洁, 赵珺, 梅家才, 等. 下肢静脉高压大鼠后肢皮肤病变的组织学研究 [J]. 中国血管外科杂志(电子版), 2019, 11(2): 132-138.

JIANG Y J, ZHAO J, MEI J C, et al. Histological study of

- pathological tissues in the lower extremity venous hypertension rats [J]. Chin J Vascular Surge (Electronic), 2019, 11(2): 132-138.
- [18] 杨启智. 下肢静脉曲张 CEAP 分级及超声指标与中医舌下络脉征象的相关性研究 [D]. 福州: 福建中医药大学; 2020.
- YANG Q Z. Correlation between CEAP classification and ultrasound indexes of varicose veins of lower extremities and signs of sublingual collaterals in traditional chinese medicine [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine; 2020.
- [19] 李龙. 下肢慢性静脉疾病 CEAP 分类系统和报告标准 2020 年修订版的解读 [J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(6): 639-647.
- LI L. Interpretation of the 2020 updated and revised edition of the CEAP classification system and reporting standards for lower extremity chronic venous disorders [J]. Chin J Gen Surg, 2021, 30(6): 639-647.
- [20] 刘明, 林鸿国, 何宜斌, 等. 下肢静脉曲张的外科治疗进展 [J]. 中国当代医药, 2022, 29(1): 27-32.
- LIU M, LIN H G, HE Y B, et al. Progress in surgical treatment of varicose veins of lower extremities [J]. Chin Mod Med, 2022, 29(1): 27-32.
- [收稿日期] 2024-06-26

《中国实验动物学报》2025 年征订启事

《中国实验动物学报》由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

开设栏目:研究报告和研究进展。

读者对象:农牧渔业、医学、药学、环保、生物、体育、国防等单位的科技工作者、教育工作者、管理人员以及有关的生产者、院校学生等。

刊期及订价:月刊,大 16 开本,140 页。月末出版。每期 50 元,全年 12 期,合 600 元。邮发代号:2-748。

汇款方式:银行转帐:中国农业银行股份有限公司北京潘家园支行

帐号:11220201040003764

单位抬头全称:中国实验动物学会

请注明订刊数量,并写明刊物寄往地址及收件人。收到汇款后,我们会及时将发票寄给您。