

张秋菊,王宇,凌必时,等. 自发性高血压大鼠的中医证型特点及其代谢物质基础研究 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(1): 44–53.

ZHANG Q J, WANG Y, LING B S, et al. Study on the characteristics of Chinese medicine syndromes and its basic metabolites of spontaneously hypertensive rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(1): 44–53.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.01.005

自发性高血压大鼠的中医证型特点及其代谢物质基础研究

张秋菊^{1,2}, 王宇^{1,2}, 凌必时¹, 司美龙¹, 孟浩先¹, 田萌媛¹, 张铭¹,
连妮妮¹, 康万荣^{1,2}, 金华^{1,2*}

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 敦煌医学与转化教育部重点实验室, 兰州 730000)

【摘要】 目的 探究自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rat, SHR) 的中医证型特点及可能的代谢物质基础。**方法** 10 周龄 SPF 级 SHR 及同品系同周龄 WKY 大鼠, 分 SHR 组和 WKY 组, 每组 8 只大鼠。通过综合动态观察和检测 SHR 的一般状态、性情、周围血管充盈度、舌象、饮食饮水量、尿量、粪便量与性状、血压、心率、呼吸频率、痛阈和旷场实验, 以辨别其可能的中医证型。同时, 利用液相色谱串联质谱技术 (liquid chromatography tandem-mass spectrometry, LC-MS/MS) 对血清代谢物进行非靶向检测分析, 以初步揭示引起血压升高和中医证型表现的物质基础。**结果** 与 WKY 组相比, SHR 组大鼠毛色暗黄、易激惹程度及周围毛细血管充盈评分较高 ($P < 0.0001$); 舌色赤红, 舌质干、津液少; 24 h 饮食饮水量及尿量、粪便量少 ($P < 0.05$), 粪便含水率较低 ($P < 0.001$); 收缩压 (systolic blood pressure, SBP)、舒张压 (diastolic blood pressure, DBP)、平均动脉压 (mean arterial pressure, MAP)、心率 (heart rate, HR)、呼吸频率 (respiratory rate, RR) 均明显较高 ($P < 0.05$); 痛阈较低 ($P < 0.0001$); 旷场实验显示, 边缘运动距离和停留时间较长 ($P < 0.001$)。血清非靶向代谢组学结果显示, 与 WKY 组相比, SHR 组大鼠具有显著性差异的代谢物共有 114 种 ($P < 0.05$), 这些差异代谢物主要为脂质和类脂分子 (40.35%)、有机酸及其衍生物 (22.8%)、有机杂环化合物 (15.79%)。差异代谢物通过京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库富集分析共得到 25 条代谢通路, 进一步差异丰度得分分析, 其中 16 条通路被激活, 仅 4 条通路被抑制, 5 条通路未见明显变化; 而其中与神经系统兴奋性相关的 3 条通路中, 谷氨酸能突触 (glutamatergic synapse) 和 γ -氨基丁酸能突触 (GABAergic synapse) 被激活, 而 5-羟色胺能突触 (serotonergic synapse) 则被抑制。**结论** SHR 有急躁易怒、周围血管扩张侧支循环形成、球结膜充血膨出、舌色赤红、舌质干、便秘、小便少而赤黄、心率、呼吸频率增快等表现, 这些均提示 SHR 表现为高血压肝阳上亢证, 其物质基础除了与脂类、氨基酸、碳水化合物代谢增强有关外, 还可能与谷氨酸能、 γ -氨基丁酸能及血清素能等神经通路代谢紊乱有关。

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (82160886, 81860832), 甘肃省级重点人才基金资助项目 (2023RCXM28), 甘肃省自然科学基金项目 (21JR7RA566), 甘肃中医药大学中医学一级学科“岐黄英才”导师专项基金资助项目 (ZYXKBD-202203), 甘肃省中医药研究中心专项课题 (zyzx-2020-zx7), 甘肃省高校中 (藏) 药化学与质量研究省级重点实验室开放基金项目 (zzy-2022-05)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (82160886, 81860832), Gansu Provincial Key Talent Fund Supported Project (2023RCXM28), Gansu Provincial Natural Science Foundation Project (21JR7RA566), Gansu University of Chinese Medicine First-Level Discipline of Chinese Medicine “Qihuang Yingcai” Mentor Special Fund Supported Project (ZYXKBD-202203), Gansu Province Traditional Medicine Research Center Special Project (zyzx-2020-zx7), Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicines of the University of Gansu Province, Gansu University of Chinese Medicine (zzy-2022-05).

【作者简介】 张秋菊, 女, 副教授, 在读博士研究生, 研究方向: 心脑血管疾病及其危险因素的中医药防治。Email: zqj@gszy.edu.cn

【通信作者】 金华, 男, 教授, 主任医师, 研究方向: 心脑血管疾病及其危险因素的中医药防治。Email: lanzhoujinhua@126.com

【关键词】 高血压;病证结合动物模型;自发性高血压大鼠;肝阳上亢证;非靶向代谢组
【中图分类号】 Q95-33 【文献标志码】 A 【文章编号】 1005-4847 (2025)01-0044-10

Study on the characteristics of Chinese medicine syndromes and its basic metabolites of spontaneously hypertensive rats

ZHANG Qiuju^{1,2}, WANG Yu^{1,2}, LING Bishi¹, SI Meilong¹, MENG Haoxian¹, TIAN Mengyuan¹,
ZHANG Ming¹, LIAN Nini¹, KANG Wanrong^{1,2}, JIN Hua^{1,2*}

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Key Laboratory of Dunhuang Medicine,
Ministry of Education, Lanzhou 730000, China)

Corresponding author: JIN Hua. E-mail: lanzhoujinhua@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the characteristics of Chinese medicine syndromes and the possible metabolic substance basis of spontaneously hypertensive rat (SHR). **Methods** 10-week-old SPF SHR and WKY of the same strain were divided into SHR group and WKY group with 8 rats in each group. The general state, temperament, peripheral vascular filling, tongue characteristics, diet, water intake, urine and feces volume and characteristics, blood pressure, heart rate, respiratory rate, pain threshold, and open field behavior of SHR rats were observed and tested comprehensively to identify the possible syndrome types of Chinese medicine. At the same time, liquid chromatography tandem mass spectrometry was used to analyze non-targeted serum metabolites to preliminarily reveal the material basis of blood pressure elevation and Chinese medicine syndrome manifestations. **Results** Compared with WKY group, the scores of dark yellow hair color, irritable degree and peripheral capillary filling were higher in SHR group ($P < 0.0001$). Red tongue color, dry tongue, little body fluid; 24 h diet and water intake, urine volume and fecal volume were less ($P < 0.05$), fecal water content was lower ($P < 0.001$); systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR) and respiratory rate (RR) were significantly higher ($P < 0.05$); Lower pain threshold ($P < 0.0001$); The open field experiment shows that the moving distance and residence time of the edge are longer ($P < 0.001$). Serum non-targeted metabolomics result showed that, compared with WKY group, the SHR group had 114 metabolites with significant differences ($P < 0.05$). These differential metabolites were mainly lipids and lipid-like molecules (40.35%), organic acids and derivatives (22.8%), and organoheterocyclic compounds (15.79%). A total of 25 metabolic pathways were identified by KEGG enrichment analysis. Further differential abundance analysis showed that 16 pathways were activated, only 4 pathways were inhibited, and 5 pathways were not significantly changed. The glutamatergic synapse and GABAergic synapse were activated, while the serotonergic synapse was inhibited. **Conclusions** The symptoms of SHR include impatience and irritability, peripheral vascular dilation and collateral circulation formation, bulbar conjunctival congestive swelling, red tongue coloration, a dry tongue, constipation, red-yellow urine of low volume, and a rapid heart rate and high respiratory rate. All these suggest that SHR is a syndrome of hypertension with hyperactivity of liver-yang. The material basis of SHR is not only related to lipid, amino acid, and carbohydrate metabolism disorders, but also may be related to metabolic disorders of glutaminergic, GABAergic, and serotonergic neural pathways.

【Keywords】 hypertension; disease and syndrome combined with animal model; spontaneously hypertensive rat; hyperactivity of liver yang; non-target metabolome

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

自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rat, SHR) 是国际上公认的最接近人类原发性高血压的实验动物模型,是研究原发性高血压病因、发病机制及治疗等领域不可或缺

模式动物。近年来,SHR 在中医药防治高血压的研究领域也得到了广泛应用^[1-2],中医独特的整体观念和辨证论治的思想决定了“病”和“证”结合的动物模型更能反映并认识疾病的规律和特

点^[3],然而,目前对于 SHR 的证型特征尚缺乏深入的观察和研究。为弥补这一不足,本研究对 SHR 的行为表现和生理状态进行了动态观察,包括一般状态、性情、周围血管充盈情况以及舌象等。此外,本研究还运用了液相色谱-串联质谱(liquid chromatography tandem-mass spectrometry, LC-MS/MS)技术,对 SHR 大鼠血清中的代谢物成分进行了鉴定和功能预测。这些研究结果不仅丰富了对 SHR 证型特征的认识,而且为中医药在高血压治疗研究中的精准应用提供了实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

10 周龄 SPF 级雄性 SHR 大鼠 8 只,及 SPF 级雄性同品系同周龄 WKY(Wistar-Kyoto, WKY)大鼠 8 只,体质量为(200 ± 20)g,分 SHR 组和 WKY 组。两组动物均购自于北京维通利华实验动物技术有限责任公司【SCXK(京)2021-0006】,饲养于甘肃中医药大学科研实验中心 SPF 级动物房【SYXK(甘)2020-0009】,恒温 25℃,恒湿(55 ± 5)%,人工光照明暗各 12 h,自由饮食饮水。动物共观察 4 周。本实验经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会审批(2021-018)。

1.1.2 主要试剂与仪器

乙腈(Fisher Chemical, 4L A955-4)、乙酸铵(Sigma, 73594)、甲醇(Fisher, A456-4)、氨水(Fisher, A470-500)。BP-98A 型动物无创血压计(日本软隆株式会社)、IITC model33(series8)红外痛觉测试仪(Artisan Technology Group)、WPB PLT-UNR-RT-2 动物肺功能检测系统(EMKA Beschlagteile)、大鼠代谢笼(上海玉研科学仪器有限公司)、OFT-100 型开场活动实验视频分析系统(成都泰盟科技有限公司)、Agilent 1290 Infinity LC 超高压液相色谱仪(Agilent)、AB Triple TOF 6600 质谱仪(AB SCIEX)、色谱柱(Waters, ACQUITY UPLC BEH Amide 1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm column)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠一般状态及性情的观察及评分

将大鼠置于安静且恒温恒湿的环境中,固定于每日 15:00 观察其在安静状态下或抓取时的性

情变化,参照并改进鄢东红等^[4]、胡淑平等^[5]的大鼠易激惹程度定量评分标准,见表 1,将大鼠性情状态分为 0 ~ III 级,于 0 ~ 16 之间进行赋分。评分方法:3 位参与课题的科研人员分别打分,取其平均值(后同)。连续记录 4 周。

表 1 大鼠易激惹程度定量评分表
Table 1 Quantitative evaluation table of irritability

in rats		
分级 Grades	性情状态 Temperament state	评分 Score
0	安静、喜睡觉;提持颈部或提尾时基本无反抗行为	0 ~ 4
	Quiet, like to sleep; no resistance when holding the neck or lifting the tail	
I	活动明显增加、喜抓笼;提持颈部或提尾时有明显反抗	5 ~ 8
	Activity increased significantly, like to catch the cage; obvious resistance when holding the neck or lifting the tail	
II	烦躁不安、有同笼打斗现象;提持颈部或提尾时出现尖叫、惊跳	9 ~ 12
	Restlessness, fighting with the rats of same cage; screaming and jumping when holding the neck or lifting the tail	
III	喜跳跃、咬笼、频繁打斗,甚至出现咬人行为;提持颈部或提尾时尖叫、惊跳、咬人	13 ~ 16
	Jumping, biting cages, frequent fighting, and even biting behavior; shriek, jump, or bite when holding the neck or lifting the tail	

1.2.2 大鼠周围血管充盈状态的观察及评分

将大鼠置于光线充足的实验台上,观察安静状态下大鼠双眼、双耳、头颈部、躯干、四肢等毛细血管的颜色、充盈状态、侧支循环的数量。参照并改进黄文权等^[6]大鼠周围血管充盈状态评分标准,将周围血管充盈状态分为 0 ~ III 级,于 0 ~ 16 之间进行赋分,见表 2。每周记录 1 次,连续 4 周。

1.2.3 大鼠舌象的观察及评估

脏腑的病变可通过舌象变化来反映。实验中,大鼠麻醉后,用镊子轻轻拉出其舌头,分别请 3 位有临床经验的中医医师对舌象进行观察、评估、描述,并对 2 组大鼠的舌象表现进行统计分析。大鼠舌象参照中医学评判标准^[7],见表 3。每周记录 1 次,连续 4 周。

1.2.4 大鼠体质量、饮食、饮水量及尿量、粪便量及粪便含水率的测量

相同饲养环境下,将大鼠置于动物代谢笼

表 2 大鼠周围血管充盈状态的观察及评分
Table 2 Observation and score of peripheral vascular filling state in rats

分级 Grades	周围血管充盈情况 Peripheral vascular filling state	评分 Score
0	双眼、双耳及头颈部毛细血管无充盈 No filling of capillaries in the eyes, ears, head and neck	0 ~ 4
I	双眼、双耳及头颈部毛细血管充盈、侧支形成明显 Capillaries of both eyes, ears, head and neck were full and the lateral branches were formed obviously	5 ~ 8
II	在 I 级基础上双眼膨出、加躯干部毛细血管充盈 Basis on the grade I, both eyes were enlarged, the capillaries of the trunk were filled	9 ~ 12
III	在 II 级基础上加四肢毛细血管充盈腹壁静脉轻度怒张 Basis on the grade II, the capillary filling of the extremities was added, the abdominal wall veins were slightly dilated	13 ~ 16

表 3 舌象观察指标及特征
Table 3 Observation indexes and characteristics of tongue image

观察指标 Observational index	舌色 Tongue color	舌苔 Coated tongue	
		苔质 Coating nature	苔色 Coating colour
特点 Characteristic	淡白色、红舌、绛舌、青紫舌 Light white, red tongue, crimson tongue, blue tongue	薄厚、润燥、腐腻 Thin and thick, moistening, dryness	白苔、黄苔、灰黑苔 White fur, yellow fur, gray and black fur

中,单鼠单笼,定量给予充足的食、水,记录大鼠 24 h 的饮食、饮水量及尿量、粪便量,同时观察尿液、粪便的颜色、性状,放入代谢笼前后均测量体质量。每周于固定时间收集 1 次。将收集 24 h 内大鼠粪便称其湿重后,置于恒温干燥箱 65 ℃干燥 12 h 后再次称其干重,计算粪便含水率:粪便含水率(%) = (粪便湿重-粪便干重)/粪便湿重 × 100%。每周记录 1 次,连续 4 周。

1.2.5 大鼠血压及心率的测量

BP-98A 型动物无创血压计测量大鼠收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、心率(heart rate, HR)。血压测量

均于下午时段,提前 30 min 将大鼠转移至实验台上并保持周围环境安静,测量时让大鼠钻入提前预热至 37 ℃ 恒温的避光固定桶中,待大鼠进入安静状态,开始加压测量,分别记录 SBP、DBP、MAP 和 HR,每只大鼠重复测量血压及心率 3 次取其平均值^[8]。每周记录 1 次,连续 4 周。

1.2.6 大鼠呼吸频率的检测

应用动物肺功能检测仪记录大鼠清醒、安静状态下的呼吸频率(respiratory rate, RR),选取 5 min 连续、平稳的呼吸时段计算大鼠的平均 RR,每周记录 1 次,连续 4 周。

1.2.7 大鼠痛阈的检测

用红外甩尾痛觉测试仪检测各组大鼠的痛阈,检测前提前 30 min 将大鼠转移至实验台上,保持周围环境安静,将大鼠尾部下 1/3 处放置于测试仪的凹槽中的激光灯下,记录大鼠从开始至尾巴甩出凹槽的时间,即为大鼠痛阈值。每只大鼠重复测 3 次,间隔 5 min。于每周固定时间记录 1 次,连续 4 周。

1.2.8 旷场实验(open field test, OFT)

将清醒、情绪稳定状态的大鼠轻轻放入旷场实验区,应用红外探测记录并分析大鼠在旷场边缘的运动距离和停留时间,每只动物记录 5 min。一只动物实验结束后均用 75% 乙醇擦拭旷场消除残留气味后再放入下一只动物。每只动物于相同时间点每周记录 1 次,连续 4 周。

1.2.9 大鼠血清代谢物的非靶向检测

大鼠于第 4 周末麻醉,心尖部穿刺取血,分离血清。将血清样本用预冷甲醇:乙腈:水溶液(2:2:1)处理,超高效液相色谱系统分离,用质谱仪进行质谱分析^[9-10]。样本队列中插入 QC 样品,用于监测和评价系统稳定性及实验数据的可靠性。将检测到的代谢物于中科新生命本地自建标准品数据库(shanghai applied protein technology)搜库,对生物样本中的代谢物进行结构鉴定^[11]。

1.3 统计学分析

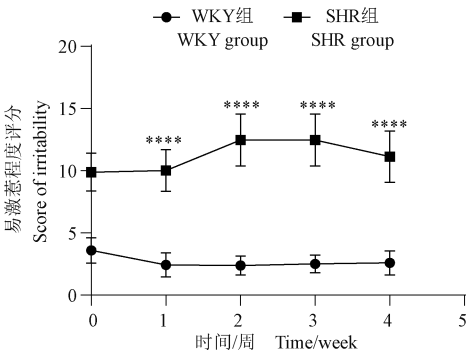
本研究数据均为计量资料,应用 GraphPad 9.0 进行数据分析及图表绘制。首先对数据进行正态分布检验,对符合正态分布的数据用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间的比较采用双因素方差分析(Two way ANOVA)。若不服从正态

分布;通过数据转换可转换为正态分布时,以“几何均数 ± 对数值的标准差”表示,转换后数据的组间比较同上;若不能转换,以“中位数 ± 四分位间距(M ± Q)”表示,组间的比较采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组大鼠易激惹程度的观察与评分

WKY 组大鼠毛发顺滑有光泽、安静喜睡、轻捉持其颈部或提尾时基本无反抗行为;而 SHR 组大鼠毛色暗黄、活动明显增加、烦躁不安、有同笼打斗现象,捉持颈部或提尾时多会尖叫、惊跳、甚至出现咬人行为。根据大鼠激惹程度定量评分,SHR 组大鼠评分均明显高于 WKY 组 ($P < 0.0001$),但 2 组动物各自的评分随时间均未出现明显变化($P > 0.05$),结果见图 1。



注:与 WKY 组相比,**** $P < 0.0001$ 。(下同)
图 1 SHR 组与 WKY 组大鼠易激惹程度的比较
Note. Compared with WKY group, **** $P < 0.0001$.
(The same in the following figures)

Figure 1 Comparison of the degree of irritability of rats between SHR and WKY groups

2.2 两组大鼠周围血管充盈状态的观察与评分

WKY 组大鼠双眼、双耳、头颈部、躯干、四肢等的毛细血管呈颜色暗红,未见充盈状态及侧支循环形成;SHR 组大鼠以上部位的毛细血管呈不同程度的充盈、扩张,暗红色,有较多侧支循环形成,尤其以双眼、耳背最为明显,部分 SHR 组大鼠眼球膨出明显。定量评分结果显示,SHR 组大鼠均高于 WKY 组 ($P < 0.0001$),结果见图 2。

2.3 两组大鼠舌象的观察

通过 4 周的观察,发现 WKY 组大鼠舌色淡红、舌质湿润,舌体大小适中;SHR 组大鼠中,大

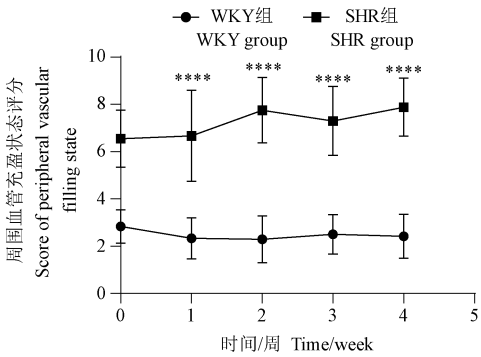


图 2 SHR 组与 WKY 组大鼠周围血管充盈状态的比较
Figure 2 Comparison of peripheral vascular filling state of rats between SHR and WKY groups

多数(75%)舌象表现为舌色赤红,舌质干、少津液,2 只(25%)出现舌象呈暗紫色,结果见图 3。



图 3 SHR 组与 WKY 组大鼠舌象特点的观察
Figure 3 Observation of the tongue image characteristics of rats in SHR and WKY groups

2.4 两组大鼠体质量、饮食、饮水量、尿量、粪便量及粪便含水率的比较

与 WKY 组相比,SHR 组大鼠饮食饮水量及尿量、粪便量均较少,尿液颜色赤黄,粪便干燥颜色苍白,颗粒小且分明,粪便含水率明显偏低 ($P < 0.001$),结果见图 4。

2.5 两组大鼠的血压及心率的比较

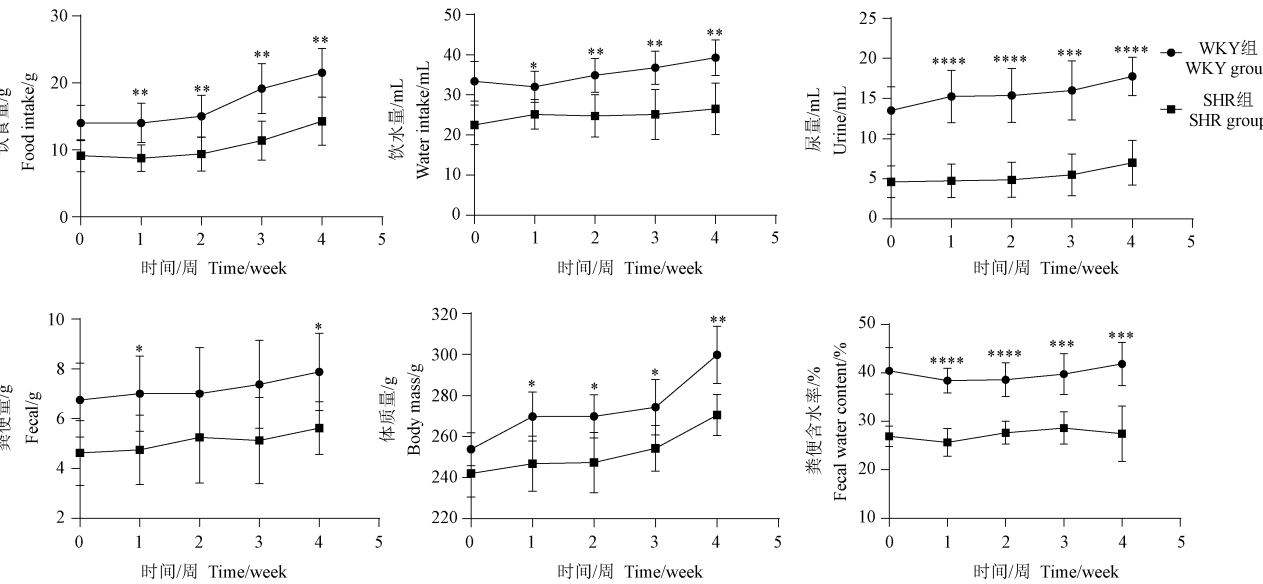
连续 4 周动态检测 WKY、SHR 组大鼠 SBP、DBP、MAP、HR,SHR 组大鼠血压心率均高于 WKY 组,Two-way ANOVA 分析显示,各时间点组间均具有统计学意义 ($P < 0.05$),结果见图 5。

2.6 两组大鼠呼吸频率的比较

动物肺功能测试系统检测结果显示,在清醒状态下,SHR 组大鼠的呼吸频率明显高于 WKY 组大鼠 ($P < 0.0001$),结果见图 6。

2.7 两组大鼠痛阈的比较

大鼠甩尾痛阈检测结果显示,与 WKY 组大鼠相比,SHR 组大鼠的痛阈显著降低 ($P < 0.0001$),结果见图 7。



注:与 WKY 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。(下图同)
图 4 SHR 组与 WKY 组大鼠体重、饮食、饮水量、尿量、粪便量及粪便含水率的比较

Note. Compared with WKY group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. (The same in the following figures)

Figure 4 Comparison of the body mass, food intake, water intake, urine, fecal and fecal water content of rats between SHR and WKY groups

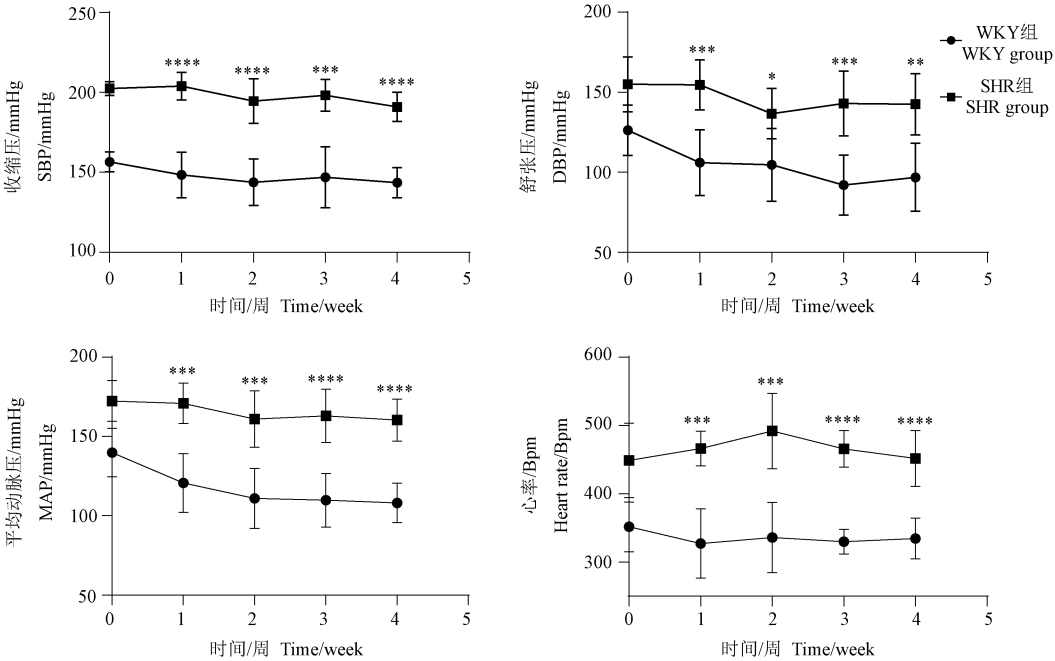


图 5 SHR 组与 WKY 组大鼠血压和心率的比较

Figure 5 Comparison of blood pressure and heart rate of rats between SHR and WKY groups

2.8 两组大鼠边缘运动距离和边缘运动时间的比较

旷场实验结果表明,与 WKY 组大鼠比较,SHR 组大鼠运动距离较大,且多贴旷场边缘,边缘运动距离和边缘运动时间均显著增加 ($P <$

0.001),结果见图 8。

2.9 两组大鼠血清代谢特点的比较

血清非靶代谢组学分析显示,在正负离子模式下,共鉴定出代谢物 1318 种。与 WKY 组大鼠相比,应用 T 检验和偏最小二乘判别分析 (PLS-

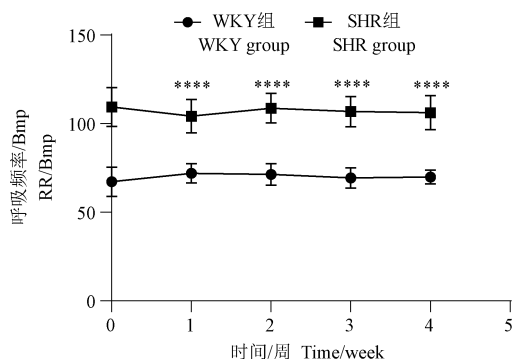


图 6 SHR 组与 WKY 组大鼠呼吸频率的比较

Figure 6 Comparison of respiratory rate of rats between SHR and WKY groups

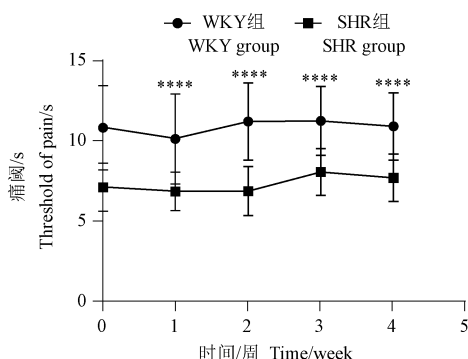


图 7 SHR 组与 WKY 组大鼠痛阈的比较

Figure 7 Comparison of pain threshold of rats between SHR and WKY groups

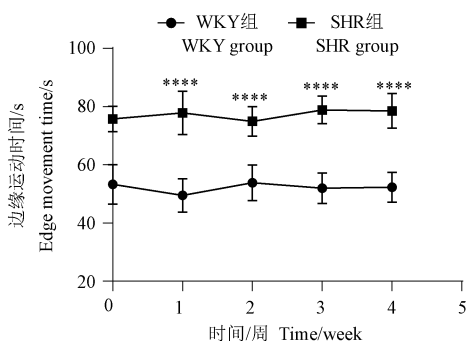


图 8 SHR 组与 WKY 组大鼠边缘运动距离和边缘运动时间的比较

Figure 8 Comparison of edge movement distance and edge movement time of rats between SHR and WKY groups

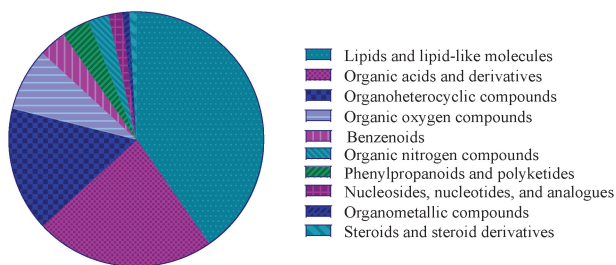


图 9 SHR 组与 WKY 组大鼠血浆差异代谢物分类图

Figure 9 Classification of plasma differential metabolites of rats in SHR and WKY groups

DA) 2 种统计学方法, 分别计算其 P 值和 VIP 值 (variable important in projection, VIP), 并以 $P < 0.05$ 和 $VIP \geq 1.00$ 为标准筛选出差异代谢物 114 种。这些差异代谢物主要归类为脂质和类脂分子 (40.35%)、有机酸及其衍生物 (22.8%)、有机杂环化合物 (15.79%), 结果见图 9。

进一步应用 KEGG 通路富集差异代谢物, 共得到 25 条可能的代谢通路。通过差异丰度得分 (differential abundance score, DAS) 评估了这些代

谢通路上所有差异代谢物的共同作用及其引起的整体变化趋势: $DAS < 0$, 说明代谢通路被可能抑制; $DAS = 0$, 说明代谢通路无明显变化趋势; $DAS > 0$, 说明代谢通路可能被激活^[12]。结果显示: 谷氨酸能突触, D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢, 氮代谢等 16 条代谢通路被激活 ($DAS > 0$), 而癌症中的胆碱代谢, 血清素突触能代谢, 甘油磷脂代谢等 4 条代谢通路被抑制 ($DAS < 0$), 其中有 3 条代谢通路与神经系统代谢相关: 谷氨酸能突触 ($DAS > 0$)、血清素突触 ($DAS < 0$)、GABA 能突触 ($DAS < 0$)。结果见图 10。

3 讨论

由于中医的整体观念和辨证论治的思想, 形成了与现代医学不同的认识疾病的独特视角, 这一视角强调疾病同时具有“病”与“证”的特征。因此, 一个同时具有证候和疾病特征的动物模型, 是中医药体内研究开展的基本条件^[13-14]。SHR 是 1963 年日本学者 OKAMOTO 等^[15]利用生

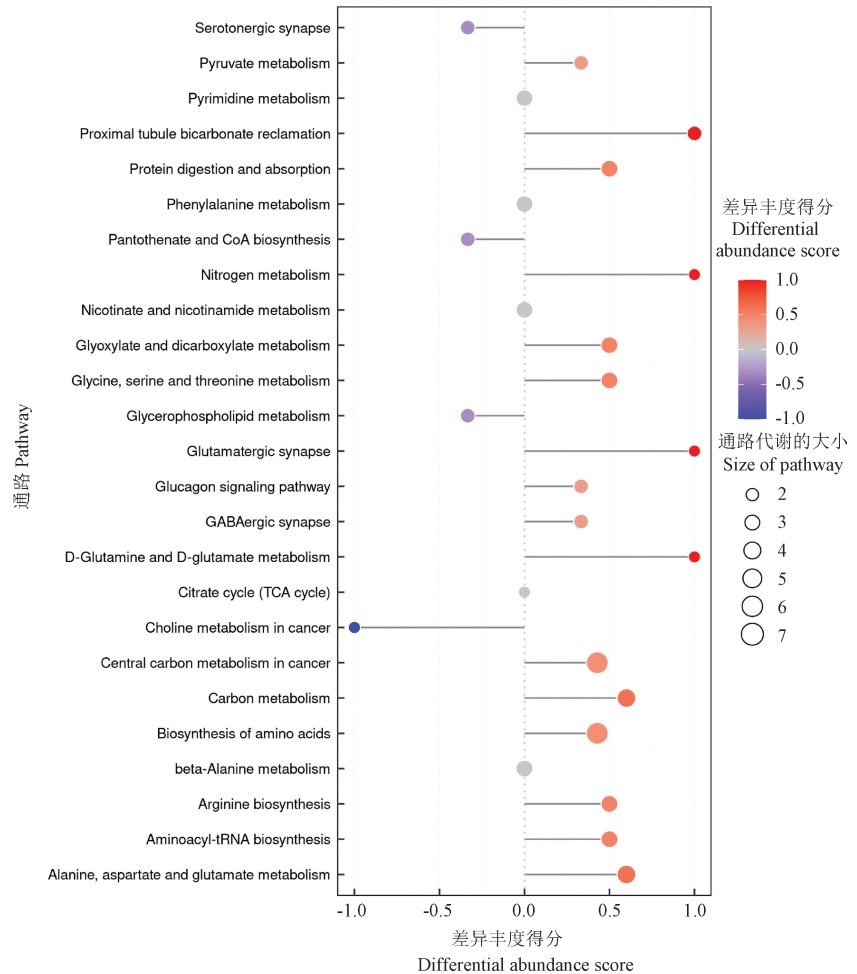


图 10 SHR 组与 WKY 组大鼠血清差异代谢通路差异丰度得分

Figure 10 Differential abundance scores of plasma differential metabolic pathways of rats in SHR and WKY groups

物遗传和变异特性自然发展而成的动物模型,属遗传性高血压大鼠品系,其病理表现与人原发性高血压高度相似,是国际上公认的原发性高血压实验研究的最佳动物模型^[16]。近年来,虽然 SHR 作为模型动物也被广泛应用于中医药防治高血压的研究中,为中医药在防治高血压的药理作用和机制的研究提供了支撑^[1,17-18],但是,对 SHR 中医证型的认识仍非常有限,目前亦尚未见到相关报道。为了解这一问题,本研究从不同角度对 SHR 进行了观察和检测。

在中医学中,高血压病属于“眩晕”范畴。根据卫生部颁布的《中药新药临床研究指导原则(试行)2002》,将眩晕(高血压)分为肝火亢盛(肝阳上亢)证、阴虚阳亢证、阴虚阳亢证和痰瘀互结证等 4 个证型^[19-20],每种证型都有其特定的主、次症状。基于高血压不同证型的特点,本研究收集了 SHR 大鼠的一般状态及性情、周围血管

充盈、舌象、饮食、进水量及尿量、粪便量及粪便含水率等信息,并将其与高血压证型进行了比对。

应用定量或半定量的观察方法,发现 SHR 表现出明显的易激惹状态、痛阈显著降低、OFT 中边缘运动距离、边缘停留时间均较长等典型的焦虑样行为,这些特点与肝阳上亢型高血压患者的急躁易怒症状高度契合,因此,初步推断,SHR 可能为高血压(眩晕)肝阳上亢证的动物模型。为了验证这一推断,本研究进一步观察了 SHR 的次要症状,首先是二便与进食进水情况,与 WKY 组相比,SHR 组大鼠饮水、进食及大、小便量均减少,小便颜色赤黄,粪便含水率明显偏低,二便特点亦与高血压肝阳上亢证的便秘、溲赤的特点相符;其次,SHR 大鼠外周毛细血管呈不同程度的扩张、侧支循环形成、眼球充血、膨出,舌色赤红,质干、少津液,以上特点亦与高血压肝阳上亢证患者的口干、面红、目赤、舌红等相同。血压和呼

吸频率测量结果显示,SHR 组大鼠 SBP、DBP、MBP 均比 WKY 组大鼠高,且 HR、RR 也较快;SHR 测得为体循环动脉压高且心率快,说明 SHR 大鼠存在脉弦数的特点。

医学家们发现高血压患者存在脂肪酸、氨基酸、神经递质等代谢紊乱的现象^[10],且不同中医证型的高血压患者代谢紊乱的特征亦有所不同,因此,有学者建议可将代谢组学作为辨别高血压证型的一种手段^[20]。因此,为进一步探索 SHR 高血压(眩晕)肝阳上亢证的物质基础,本研究应用 LC-MS/MS 对其血清中的代谢物进行了非靶向的鉴定、分类和功能富集,最终筛选出差异代谢物 114 种,这些差异代谢物主要为:脂质和类脂分子(40.35%),有机酸及其衍生物(22.8%)和有机杂环复合物(15.79%)。提示这 3 种物质的代谢紊乱可能在血压发生发展及肝阳上亢证的形成中起到了重要作用^[21-23]。这一实验结果与吴佳芸等^[24]、李超等^[25]的临床和实验结果基本一致。

应用 KEGG 通路富集和差异丰度得分法进一步对检测结果进行分析,富集得到差异代谢通路 25 条,其中的 16 条均被激活,仅 4 条被抑制,这一结果充分说明了 SHR 大鼠的能量代谢明显比 WKY 活跃。深入分析还发现,有 3 条代谢通路直接参与了机体兴奋性及焦虑样行为的形成:谷氨酸能突触、血清素突触、GABA 能突触。差异丰度得分显示,谷氨酸能突触和 GABA 能突触的代谢通路被激活,而血清素神经突触代谢通路则被抑制,因此基于以上结果推测,SHR 大鼠高血压(眩晕)肝阳上亢表现的原因可能与其物质代谢增强及神经兴奋性紊乱相关。

然而,由于人类疾病证型与动物之间可能存在差异,某些较为主观的指标如头晕、疼痛等无法在模型动物上得到准确反映,且对各种症状的观察评估目前还缺乏客观量化的指标。因此,虽然初步判断 SHR 可能表现为高血压肝阳上亢证,但仍需进一步完善其评价体系及相关物质基础。

参 考 文 献(References)

- [1] 王玉妹,唐纯志,李景,等. 针刺“太冲”对自发性高血压大鼠血压影响的时效性[J]. 中医杂志, 2019, 60(22): 1964-1967.
WANG Y M, TANG C Z, LI J, et al. Effects of acupuncture at “Taichong” (LR3) on time-effect of lowering blood pressure in spontaneously hypertensive rats [J]. J Tradit Chin Med, 2019, 60(22): 1964-1967.
- [2] 徐晓雨, 龚帆影, 张春芹, 等. 潜阳育阴颗粒对阴虚阳亢型高血压合并高脂血症患者血管弹性功能的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(6): 865-870.
XU X Y, GONG F Y, ZHANG C Q, et al. Clinical study on the effect of Qianyang Yuyin Granules on vascular elasticity function of hypertension combined with hyperlipidemia with Yin deficiency and Yang excess syndrome [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2021, 37(6): 865-870.
- [3] 任志鑫, 王雨, 张冰, 等. 代谢性疾病病证结合动物模型的探讨与思考[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 897-908.
REN Z X, WANG Y, ZHANG B, et al. Animal models combining disease and syndromes related to metabolic diseases [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(7): 897-908.
- [4] 鄢东红, 金益强, 肖纯, 等. 自发性高血压大鼠肝阳上亢证模型的复制[J]. 湖南中医学院学报, 1999, 19(4): 35-38.
YAN D H, JIN Y Q, XIAO C, et al. Replication of liver yang hyperactivity syndrome model in spontaneously hypertensive rats [J]. J Hunan Univ Chin Med, 1999, 19(4): 35-38.
- [5] 胡淑平, 吕圭源, 于平野, 等. 肝阳上亢型高血压模型及评价初探[J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(5): 698-701.
HU S P, LYU G Y, YU P Y, et al. Evaluation to hypertension model of hyperaction of liver Yang [J]. J Zhejiang Univ Tradit Chin Med, 2008, 32(5): 698-701.
- [6] 黄文权, 肖鸿, 袁林贵. 肝阳上亢证型实验动物模型研究初探[J]. 中国中医急症, 1996, 5(1): 36-37.
HUANG W Q, XIAO H, YUAN L G. Preliminary study on experimental animal model of hyperactivity of liver Yang syndrome [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 1996, 5(1): 36-37.
- [7] 陈金水. 中医学[M]. 北京: 人民卫生出版社; 2018.
Chen J S. Traditional chinese medicine [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2018.
- [8] 赵健清, 丁露, 曾俊义, 等. 自发性高血压大鼠心肌纤维化时序动态变化[J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 724-729.
ZHAO J Q, DING L, ZENG J Y, et al. Chronological changes in myocardial fibrosis in spontaneously hypertensive rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(6): 724-729.
- [9] HAN Y, SUN H, ZHANG A, et al. Chinmedomics, a new strategy for evaluating the therapeutic efficacy of herbal medicines [J]. Pharmacol Ther, 2020, 216: 107680.

- [10] 陈帅, 韦姗姗, 贾勇, 等. 代谢组学在高血压研究中的应用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(2): 210-217.
CHEN S, WEI S S, JIA Y, et al. Overview of metabolomics in research of hypertension [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2020, 26(2): 210-217.
- [11] 李佳佳. 西达本胺通过靶向能量代谢协同顺铂杀伤卵巢癌细胞及卵巢癌耐药细胞的代谢组学研究 [D]. 长春: 吉林大学; 2023.
LI J J. Synergy between Chidamide and cisplatin in killing ovarian cancer cells via targeting energy metabolism and metabolomics-based analysis on chemoresistance of ovarian cancer cells [D]. Changchun: Jilin University; 2023.
- [12] HAKIMI A A, REZNIK E, LEE C H, et al. An integrated metabolic atlas of clear cell renal cell carcinoma [J]. Cancer Cell, 2016, 29(1): 104-116.
- [13] 李思汉, 李书楠, 周福, 等. 关于中医证候动物模型研究的思考 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3357-3361.
LI S H, LI S N, ZHOU F, et al. Thought on study of animal models of traditional Chinese medicine syndromes [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(8): 3357-3361.
- [14] 李缘缘, 高碧珍. 中医证动物模型的发展现状、问题与对策思考 [J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(1): 49-53.
LI Y Y, GAO B Z. Current status, problems and countermeasures of animal models for traditional Chinese medicine syndromes [J]. Chin J Tradit Chin Med, 2024, 39(1): 49-53.
- [15] OKAMOTO K, AOKI K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats [J]. Jpn Circ J, 1963, 27: 282-293.
- [16] 屈会化, 赵琰, 王庆国. 自发性疾病动物模型的中医证候特征辨析思路与方法 [J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(12): 2506-2508.
QU H H, ZHAO Y, WANG Q G. Thinking train and method in differentiate and analyse research of spontaneously disease animal model with the characteristic of Chinese medical syndrome [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2007, 25(12): 2506-2508.
- [17] 秦钦, 时拥月, 姚佳梅, 等. 天麻钩藤饮对自发性高血压大鼠 p38 MAPK/HSP27 通路影响的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(12): 1694-1705.
QIN Q, SHI Y Y, YAO J M, et al. Study on the effect of Tianma Gouteng Decoction on the p38 MAPK/HSP27 pathway in spontaneously hypertensive rats [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2023, 46(12): 1694-1705.
- [18] 靳冉, 张志聪, 岳枫, 等. 安宫降压丸对自发性高血压大鼠的降压作用及机制 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4801-4804.
JIN R, ZHANG Z C, YUE F, et al. Antihypertensive effect and mechanism of Angong Jiangya Pills on spontaneously hypertensive rats [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(8): 4801-4804.
- [19] 何彦虎, 金华, 靳利梅, 等. 高血压不同中医证候患者脑白质病变评估研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(6): 826-835.
HE Y H, JIN H, JIN L M, et al. Research assessment of white matter lesions in hypertensive patients with different traditional Chinese medicine syndromes [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2023, 46(6): 826-835.
- [20] 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.
ZHENG X Y. Guiding principles of clinical research on new Chinese medicine (Trial) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press; 2002.
- [21] BLOODA J, CANNON C P, GORDON W J, et al. Results of a remotely delivered hypertension and lipid program in more than 10000 patients across a diverse health care network [J]. JAMA Cardiol, 2023, 8(1): 12-21.
- [22] CHANDRA A, AYERS C R, NEELAND I J. Temporal changes in body fat distribution and hypertension [J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 73(25): 3357-3359.
- [23] PÉREZ DE ISLA L, WATTS G F, ALONSO R, et al. Lipoprotein (a), LDL-cholesterol, and hypertension; predictors of the need for aortic valve replacement in familial hypercholesterolaemia [J]. Eur Heart J, 2021, 42(22): 2201-2211.
- [24] 吴佳芸, 李玲玲, 乔佳君, 等. 持续高血压状态自发性高血压大鼠血清代谢组学研究 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(4): 428-439.
WU J Y, LI L L, QIAO J J, et al. A serum metabolomics-based study on persistent hypertensive SHR [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(4): 428-439.
- [25] 李超, 鞠建庆, 潘文慧, 等. 基于血清代谢组学的高血压病中医证型代谢模式差异分析 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(9): 5515-5520.
LI C, JU J Q, PAN W H, et al. Analysis of the difference in the metabolic patterns of hypertension TCM syndromes based on serum metabolomics [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(9): 5515-5520.

[收稿日期] 2024-07-05