

刘志恒,陈雨立,刘羽,等. 基于“病-证-药”探讨卒中后抑郁病证结合模型构建及评估[J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(3): 388-398.

LIU Z H, CHEN Y L, LIU Y, et al. Establishment and evaluation of a combination of disease and syndrome model of post-stroke depression based on the theory of “disease-syndrome-drug” [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(3): 388-398.

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2025.03.007

基于“病-证-药”探讨卒中后抑郁病证结合模型构建及评估

刘志恒^{1,2}, 陈雨立^{1,2}, 刘羽^{1*}, 王鑫^{1,2}, 刘瑜^{1,2}, 刘林¹

(1. 湖南中医药大学第一附属医院,长沙 410007; 2. 湖南中医药大学,长沙 410208)

【摘要】 目的 基于“郁、瘀、痰”证素探讨卒中后抑郁症(PSD)病证结合模型及其客观评价体系的构建。方法 将大鼠随机分为对照组、抑郁组、卒中组、PSD组、百事乐加味方组。以“大脑中动脉栓塞术(MCAO)+慢性不可预知性温和应激(CUMS)”制备PSD病证结合模型。造模结束后,以水迷宫实验、旷场实验、强迫游泳实验、糖水偏好实验、神经递质水平、脑组织病理损伤、舌质和爪色RGB值、血液流变学、血脂代谢情况分别评估“郁、瘀、痰”证候要素。结果 PSD大鼠目标象限停留时间、穿越平台、爬格及直立次数显著降低,糖水消耗率下降,强迫游泳相对不动时间显著增加;苏木素-伊红(HE)及尼氏染色结果表明PSD大鼠脑组织明显损伤,血清、脑脊液5-HT显著降低,Glu显著升高;舌质和爪色RGB值下降;血液流变学呈高凝;血脂代谢相关指标均明显异常。百事乐加味方组较PSD组,大鼠目标象限停留时间、穿越平台、爬格及直立次数显著升高,糖水消耗率上升,强迫游泳不动时间显著减少,脑组织病理损伤明显改善,血清、脑脊液5-HT显著升高,Glu显著降低,舌质和爪色RGB值升高,血液流变学各项指标均下降,血脂代谢相关指标均有所逆转。结论 通过“MCAO+CUMS”可成功构建具备“郁、瘀、痰”证素特点的病证结合动物模型,并建立相对应的客观评估标准。

【关键词】 卒中后抑郁;证素理论;病证结合模型;百事乐加味方

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2025)03-0388-11

Establishment and evaluation of a combination of disease and syndrome model of post-stroke depression based on the theory of “disease-syndrome-drug”

LIU Zhiheng^{1,2}, CHEN Yuli^{1,2}, LIU Yu^{1*}, WANG Xin^{1,2}, LIU Yu^{1,2}, LIU Lin¹

(1. the First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

Corresponding author: LIU Yu. E-mail: 50748282@qq.com

【Abstract】 Objective To construct an animal model of post-stroke depression (PSD) based on the theory of “depression, stasis, phlegm”, with the aim of developing and validating an objective assessment system. **Methods**

【基金项目】 湖南省自然科学基金(2023JJ60488, 2025JJ80956), 湖南省中医药科研项目(B2023129), 湖南省重点研发项目(2023DK2005, 2024JK2121), 湖南省教育厅项目(24B0344)。

Funded by Natural Science Foundation of Hunan Province (2023JJ60488, 2025JJ80956), Research Foundation of Traditional Chinese Medicine of Hunan Province (B2023129), Key Research Foundation of Hunan Province (2023DK2005, 2024JK2121), Scientific Research Project of Hunan Provincial Department of Education (24B0344).

【作者简介】 刘志恒,男,硕士,研究方向:中西医结合心脑血管。Email:867639551@qq.com

【通信作者】 刘羽,女,硕士,副教授,研究方向:中药神经精神药理。Email:50748282@qq.com

Rats were divided randomly into five groups: control, depression, stroke, PSD, and Baishile decoction groups. A PSD syndrome-based animal model was established in rats using a combination of middle cerebral artery occlusion (MCAO) and chronic unpredictable mild stress (CUMS). “Depression, stasis, phlegm” were then evaluated in the model rats using the Morris water maze, open field, forced swimming, and sucrose preference tests, and by detection of neurotransmitter levels, brain tissue pathology, tongue and forepaw color RGB values, and blood rheology.

Results PSD rats exhibited significantly shorter target quadrant dwelling times, platform crossings, and climbing and rearing frequencies, a significantly lower sucrose preference, and a significantly higher immobility time in the forced swim test compared with control rats. Hematoxylin and eosin and Nissl staining revealed brain tissue damage in PSD rats. Serum and cerebrospinal fluid levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT) were significantly decreased, glutamate levels were significantly increased, and tongue and forepaw RGB values were all decreased. Blood rheology showed a hypercoagulable state and blood lipid metabolism-related indicators were significantly abnormal. Rats in the Baishile decoction group showed significant improvements compared with the PSD group, including increased target quadrant dwelling times, number of platform crossings, and climbing and rearing frequencies, increased sucrose preference, decreased immobility time in the forced swim test, improved brain tissue pathology, increased serum and cerebrospinal fluid levels of 5-HT, decreased glutamate levels, increased tongue and claw RGB values, and varying degrees of improvement in blood rheology and blood lipid metabolism-related indicators. **Conclusions** The combination of MCAO and CUMS successfully established a syndrome-based animal model of PSD exhibiting the characteristics of “depression, stasis, phlegm”, with corresponding objective assessment criteria.

【Keywords】 post-stroke depression; syndrome element; combination of disease and syndrome; modified Baishile decoction

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

脑卒中后抑郁症 (post-stroke depression, PSD) 是指发生于卒中后, 表现除卒中症状以外的一系列以情绪低落、兴趣缺失为主要特征的情感障碍综合征, 阻碍了脑卒中临床患者的神经功能恢复, 对患者及其家庭造成巨大经济和精神负担^[1]。目前针对卒中后抑郁患者的现代医学治疗手段存在明显的局限性, 如药物的不敏感性、副作用较多等, 因而在临床运用中未能取得比较理想的效果。中医药治疗 PSD 基于“整体论治”理论, 立足于标本兼治和精准施治, 多靶点、多途径共同发挥作用, 具有不良反应较少、疗效持久等特点优势, 在临床运用中取得不错的疗效。因此, 把握 PSD 的中医学理论, 紧扣其“证素”“病机”进行临床实践和基础研究, 对 PSD 的中医药防治研究具有重要的科学价值与临床意义。

病证结合动物模型作为中医药基础研究的最佳实验对象, 同时兼顾了现代医学“病”的特点和中医学“证”的特征, 是宏观和微观、整体论与分析论的结合, 是中医药基础实验领域中的发展热点^[2]。当前, 用于 PSD 中医药基础研究的病证结合动物模型大多是以“郁证”为出发点, 忽视了卒中这一原发性疾病的证候特点, 单纯地模拟缺

血性脑卒中这一疾病模型为基础合并制备具有中医“郁证”表现的动物模型, 因此不能充分地对“病”和“证”进行模拟。鉴于 PSD 病证结合模型制备体系和评估标准的缺失, 本研究基于课题组前期的临床观察, 采用“大脑中动脉栓塞术 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) + 慢性不可预知性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS)”的复合造模方法, 即通过在疾病模型的制备过程中加以特定的中医证候模型的制备, 诱导出具有“郁、瘀、痰”证候要素特点的 PSD 病证结合模型, 并对模型进行客观综合评价, 使模型符合人类自然发生的 PSD 病变特点及兼具中医证候特征, 即“病证同源”。本研究旨在建立可重复较高的 PSD 病证结合动物模型, 为 PSD 的中医药基础研究提供可靠的技术支持, 为中医药的临床应用提供科学证据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 54 只, 雄性, 体质量 (265 ± 15)g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司

【SCXK(湘)2019-0004】，于湖南中医药大学第一附属医院实验动物中心饲养【SYXK(湘)2020-0010】，温度(20 ± 2)℃、相对湿度 45% ± 5%，光照周期为 12 h，自由摄食饮水，适应性饲养 7 d 后开始正式实验。本研究方案经湖南中医药大学第一附属医院动物实验伦理委员会监管和批准(ZYFY20231108-103)实施。

1.1.2 主要试剂与仪器

百事乐加味方由姜黄、贯叶连翘、人参、生黄芪、川芎、柴胡、石菖蒲等中药组成，均由湖南中医药大学第一附属医院中药房提供。按方剂组成称取对应比例重量的中药饮片，后以 10 倍量水浸泡 2 h 后开始煎煮，先武火煮沸后再用文火煎煮 1 h，趁热滤去药渣，收集首煎药液，再加 8 倍量水再煎煮 40 min，过滤并收集复煎药液，合并 2 次药液，水浴浓缩至原药材浓度为 2.35 g/mL 的药液。

甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所, 货号分别为 A110-1-1、A111-1-1、A112-1-1、A113-1-1);5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、谷氨酸(glutamate, Glu)ELISA 试剂盒(武汉 Bioswamp 公司, 货号分别为 RA20031、RA21320)。

A2-283850 线栓(北京西浓科技有限公司); Enspire 多功能酶标仪(美国 Perkinelmer 公司); SHistoStar 组织包埋机(ThermoFisher 公司); Z32HK 高速冷冻离心机(德国 Hermle 公司); Vectra 智能组织切片成像分析系统(美国 Perkinelmer 公司); Labmaze 动物行为轨迹视频分析系统(北京众实科技有限公司); ZL9100C 全自动血流变测试仪(北京众驰伟业科技发展有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组造模及干预

按体质量和神经功能缺损评分以随机数字法分为对照组、抑郁组、卒中组、PSD 组和百事乐加味方组，每组 6 只。PSD 病证结合造模方法如下：麻醉大鼠后，用线栓阻塞右侧颈内动脉，制备卒中大鼠模型。其中对照组和抑郁组线栓不插

入颈总动脉。术后清醒后按 Longa 评分法进行神经功能评分，术后恢复 7 d 后，单笼孤养，用 CUMS 制备抑郁大鼠模型，包括禁食禁水(24 h)、潮湿垫料(24 h)、4℃冰水游泳(3 min)、倾笼(24 h)、噪音(4 h)、夹尾(3 min)、昼夜颠倒。每天随机选取一种刺激且相同刺激不连续出现，持续 4 周。百事乐加味方组于 CUMS 造模第 1 天开始灌胃给药 23.5 g/kg 百事乐加味方水煎液，其余各组均灌胃蒸馏水，体积均为 10 mL/kg，每天灌胃 1 次，连续 28 d。每日观察大鼠的精神状态、毛色、活动状态、进食等情况，并于 CUMS 造模期间第 0、7、14、21、28 天分别称量并记录大鼠的体质量变化。造模结束后，依次进行行为学实验，舌质、前爪数据采集，组织取样和相关指标检测。

1.2.2 “郁”证客观指标检测

(1) Morris 水迷宫实验：连续 4 d 按顺序将大鼠从不同象限放入温度为(21 ± 1)℃的水池中，观察并计时 90 s，记录其寻找并爬上平台的时间。若其未找到平台，则记录时长为 90 s，并引导至平台学习 10 s，实验过程中平台的位置始终保持不变。第 5 天撤去平台，在平台对侧象限将大鼠面向池壁放入水中，记录大鼠 3 min 内在平台象限活动时间及穿越平台次数。

(2) 旷场实验：在高 40 cm、长宽均为 100 cm 的无盖黑色敞箱底面的中心放入大鼠，待其适应 1 min 后，记录 3 min 内大鼠穿越底面的格数(水平活动)和直立次数(垂直活动)。每测试完 1 只，清理残留粪便及尿液，并使用乙醇消除其残留的气味。

(3) 强迫游泳实验：将大鼠依次放入高度 56 cm，直径 20 cm，水深 35 cm 的透明玻璃圆桶(确保大鼠不能在水中立足或站立)，适应 1 min，记录大鼠 3 min 内在桶内的相对不动时间。

(4) 糖水偏好实验：实验开始前进行糖水适应训练，将每只大鼠单笼饲养并给予 2 瓶 1%蔗糖溶液 24 h，后给予 1%蔗糖溶液 1 瓶和纯水 1 瓶 24 h，12 h 调换水瓶位置。正式实验开始时，分别给予 1%蔗糖溶液 1 瓶、纯水 1 瓶，2 h 调换水瓶位置，记录并计算 4 h 内糖水消耗率。糖水消耗率 = 糖水消耗量 / (糖水消耗量 + 纯水消耗量)。

(5) 苏木素-伊红(HE)染色：取多聚甲醛中固定的大脑组织标本，经梯度乙醇脱水、二甲苯

透明、浸蜡,制作石蜡包埋块,6 ~ 8 μm 切片,经过脱蜡水化后,用甲苯胺蓝染液染色,乙醇分化并梯度脱水,中性树胶封片,于光学显微镜下观察海马组织 CA1 区。

(6)尼氏染色:将海马组织石蜡切片经尼氏染液染色 2 ~ 5 min,水洗至流水无颜色,用 0.1% 冰乙酸对切片进行分化,根据组织着色深浅进行分化,去除切片上多余水分,置于 65 °C 烤箱烤干,中性树胶封片,后置于光学显微镜下观察。

(7)神经递质含量检测:将血清、脑脊液样本和试剂盒从冰箱中取出,在室温下自然平衡后按照试剂盒说明书严格进行 Glu、5-HT 水平的检测。

1.2.3 “瘀”证客观指标检测

(1)舌质、爪色 RGB 值:在光源和环境固定的条件下,固定大鼠颈部,置白色比色卡于拍摄视野内,将大鼠舌头和前爪轻轻舒展,迅速进行拍摄,避免出现瘀血假象。实验结束后使用 Photoshop 6.0 对收集的图像进行分析,将白色色卡设置为图片标准色卡中的白色阶值,测量舌质及前爪随机 3 个区域的 RGB(red, green, blue) 值,计算并取平均值。

(2)血液流变学检测:取 4 mL 全血于肝素钠抗凝管后,应用全自动血液流变仪测定其全血黏度、血浆黏度、纤维蛋白原、红细胞聚集指数等血液流变学参数。

1.2.4 “痰”证客观指标检测

将血清样本和试剂盒从冰箱中取出,在室温下平衡后,按照试剂盒说明书依次严格进行血清

中 TG、TC、HDL-C 和 LDL-C 的含量检测。

1.3 统计学分析

所有数据采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析,方差齐时组间两两比较采用 LSD 检验,方差不齐时使用 Dunnett's T3 检验,以 $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠体质量变化

应激前,对照组与抑郁组、卒中组、PSD 组与百事乐加味方组大鼠体质量比较,均无统计学意义,经过 4 周的造模及给药干预后,各组大鼠体质量均有不同程度的升高。与对照组比较,在应激 0 d 时卒中组、PSD 组与百事乐加味方组体质量均明显下降($P < 0.01$);在应激 21 d 时抑郁组体质量明显下降($P < 0.05$)。与 PSD 组比较,应激 14 d 百事乐加味方组体质量显著升高($P < 0.01$)。(见表 1)。

2.2 “郁”证客观指标检测结果

2.2.1 行为学实验结果

(1)Morris 水迷宫实验:与对照组比较,PSD 组大鼠目标象限停留时间和穿越平台次数均显著降低($P < 0.01$);与 PSD 组比较,百事乐加味方组大鼠目标象限停留时间和穿越平台次数均提高($P < 0.01$)。(见图 1)。

(2)旷场实验:与对照组比较,PSD 组大鼠爬格次数和直立次数显著降低($P < 0.01$);与 PSD

表 1 各组大鼠不同时间点体质量比较($\bar{x} \pm s, n = 6, g$)

Table 1 Comparison of the body mass of each group of rats at different time points($\bar{x} \pm s, n = 6, g$)

组别 Groups	应激 0 d Stress 0 d	应激 7 d Stress 7 d	应激 14 d Stress 14 d	应激 21 d Stress 21 d	应激 28 d Stress 28 d
对照组 Control group	345.2 ± 13.7	386.3 ± 8.4	420.8 ± 23.3	441.0 ± 14.0	465.5 ± 7.4
抑郁组 Depression group	336.7 ± 13.2	374.8 ± 14.9	408.5 ± 15.8	415.3 ± 23.2 [●]	436.7 ± 17.5 [●]
卒中组 Stroke group	209.0 ± 22.8 ^{●●}	269.3 ± 19.9 ^{●●}	325.7 ± 32.6 ^{●●}	363.7 ± 35.1 ^{●●}	395.2 ± 38.5 ^{●●}
PSD 组 PSD group	202.7 ± 17.5 ^{●●}	247.7 ± 18.0 ^{●●}	274.0 ± 14.1 ^{●●}	296.7 ± 23.6 ^{●●}	321.4 ± 23.1 ^{●●}
百事乐加味方组 Baishile decoction group	213.7 ± 28.5 ^{●●}	262.3 ± 20.1 ^{●●}	319.2 ± 24.2 ^{●●▲▲}	354.5 ± 31.5 ^{●●▲▲}	391.0 ± 29.0 ^{●●▲▲}

注:与对照组相比,● $P < 0.05$,●● $P < 0.01$;与 PSD 组相比,▲▲ $P < 0.01$ 。(下图/表同)

Note. Compared with control group, ● $P < 0.05$, ●● $P < 0.01$. Compared with PSD group, ▲▲ $P < 0.01$. (The same in the following figures and tables)

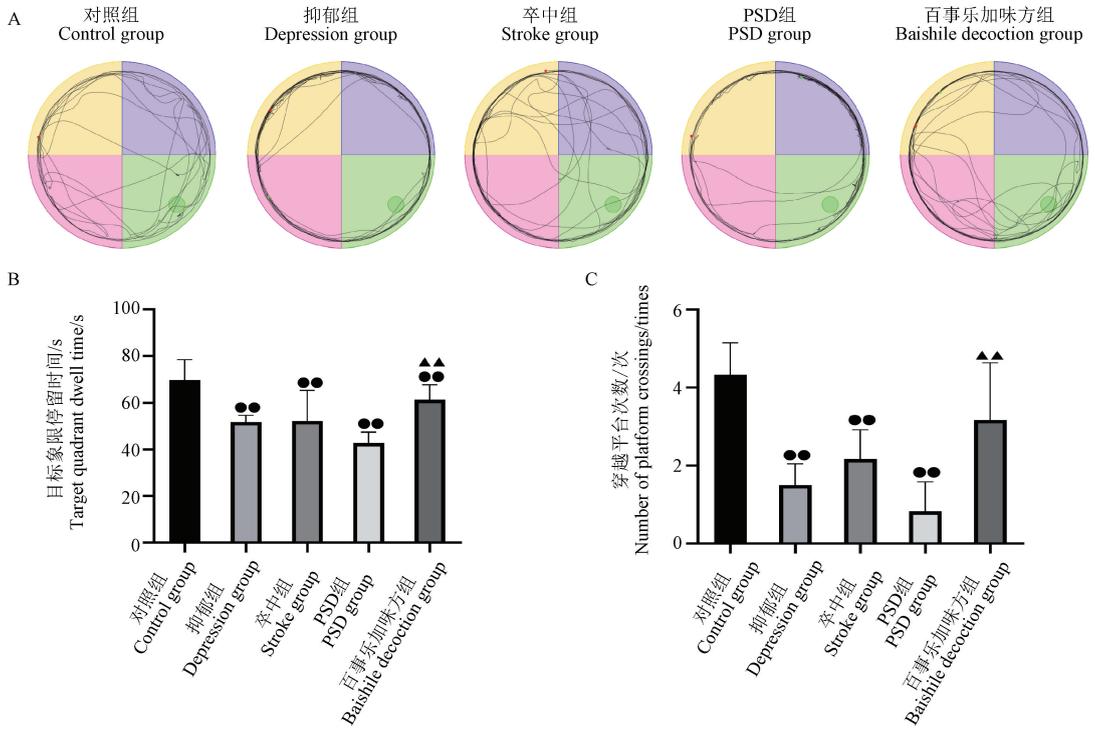


图 1 各组大鼠 Morris 水迷宫实验轨迹

Figure 1 Track plot of Morris water maze in each group of rats

组比较,百事乐加味方组大鼠爬格次数和直立次数显著升高($P < 0.01$)。(见图 2)。

鼠不动时间显著增加($P < 0.01$);与 PSD 组比较,百事乐加味方组大鼠不动时间显著减少($P < 0.01$)。(见表 2)。

(3)强迫游泳实验:与对照组比较,PSD 组大

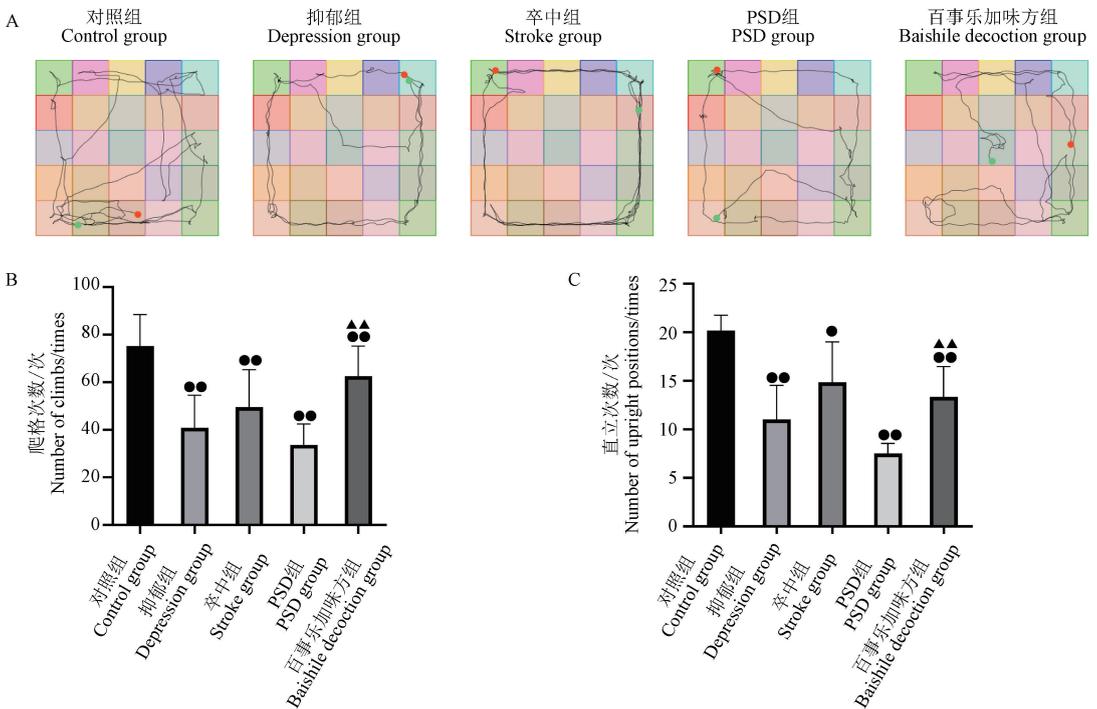


图 2 各组大鼠旷场实验轨迹

Figure 2 Trajectory of open field experiment of each group of rats

(4)糖水偏好实验:与对照组比较,PSD 组大鼠糖水消耗率明显下降($P < 0.01$);与 PSD 组比较,百事乐加味方组大鼠糖水消耗率明显上升($P < 0.01$)。(见表 3)。

2.2.2 海马 CA1 区 HE 染色

对照组大鼠海马 CA1 区神经元细胞层数多,

表 2 各组大鼠强迫游泳实验比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Comparison of the forced swim experiment of each group of rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	强迫游泳不动时间/s Forced swimming test immobile time
对照组 Control group	31.63 ± 8.90
抑郁组 Depression group	46.80 ± 4.75 ^{●●}
卒中组 Stroke group	44.04 ± 7.98 [●]
PSD 组 PSD group	62.92 ± 11.27 ^{●●}
百事乐加味方组 Baishile decoction group	44.80 ± 9.37 ^{▲▲}

细胞间排列整齐、界限清楚;PSD 组神经元细胞层数少,排列疏松、紊乱,细胞间隙增大,数量相对减少;百事乐加味方组大鼠海马 CA1 区神经元细胞排列相对整齐,细胞层数较多,细胞凋亡情况较轻。(见图 3)。

表 3 各组大鼠糖水偏好实验比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Comparison of the sucrose preference test of each group of rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	糖水消耗率/% Percentage of sucrose preference/%
对照组 Control group	70.15 ± 17.22
抑郁组 Depression group	34.30 ± 9.50 ^{●●}
卒中组 Stroke group	52.40 ± 11.70
PSD 组 PSD group	25.93 ± 7.63 ^{●●}
百事乐加味方组 Baishile decoction group	62.62 ± 10.96 ^{▲▲}

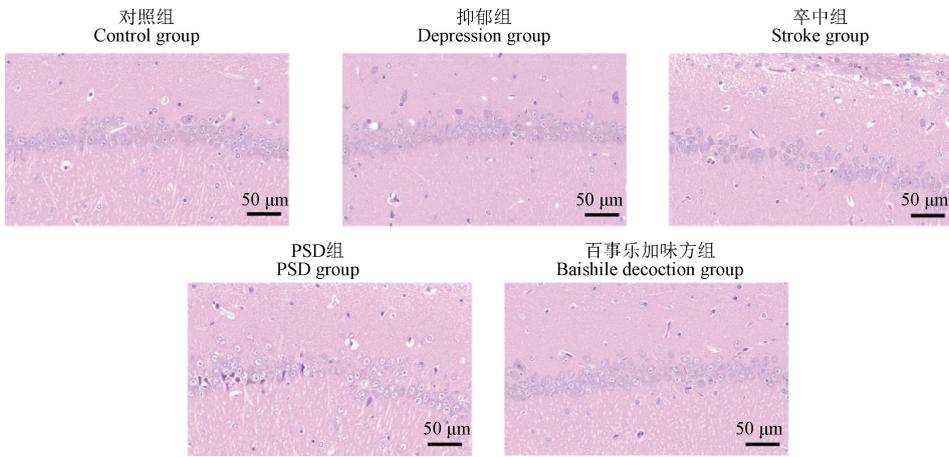


图 3 各组大鼠海马 CA1 区 HE 染色结果

Figure 3 HE staining result of each group of rats in the hippocampus CA1 region

2.2.3 海马 CA1 区尼氏染色

对照组大鼠海马 CA1 区细胞形态结构正常、轮廓较正常,尼氏小体和细胞体和细胞核清晰可见;PSD 组大鼠海马 CA1 区尼氏小体减少细胞间隙增宽及肿胀,细胞轮廓欠清晰;百事乐加味方组大鼠海马 CA1 区尼氏小体较多,细胞损伤降低。(见图 4)。

2.2.4 神经递质 5-HT、Glu 水平检测

与对照组比较,PSD 组大鼠血清、脑脊液中

5-HT 显著降低、Glu 显著升高($P < 0.01$);与 PSD 组比较,百事乐加味方组大鼠血清、脑脊液中 5-HT 显著升高,Glu 显著降低($P < 0.05$)。(见表 4)。

2.3 “瘀”证客观指标检测结果

2.3.1 舌质、前爪的 RGB 值测定

与对照组相比,抑郁组的舌质 R 值均无明显差异($P > 0.05$),卒中组和 PSD 组的舌质 R 值明显下降($P < 0.01$);与 PSD 组相比较,百事乐加味方组大鼠的舌质 R 值有所升高($P < 0.01$)。

与对照组相比,抑郁组的前爪 RGB 值均无明显差异($P > 0.05$),卒中组和 PSD 组的前爪 RGB 值均明显下降($P < 0.05$);与 PSD 组相比较,而百事乐加味方组大鼠的前爪 RGB 值有所升高($P < 0.01$)。(见表 5、图 5、图 6)

2.3.2 血液流变学检测

与对照组相比,PSD 组大鼠的全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数和纤维蛋白原均表现出不同程度的明显升高($P < 0.01$);与 PSD 组相

比,百事乐加味方组大鼠的血液流变学指标均有不同程度下降($P < 0.01$)。(见表 6)。

2.4 “痰”证客观指标检测结果

血脂代谢相关指标检测与对照组相比,PSD 组大鼠的 TC、TG 和 LDL-C 血清水平均上升($P < 0.05$),而 HDL-C 血清水平下降($P < 0.01$);与 PSD 组相比,百事乐加味方组大鼠的 TC、TG 和 LDL-C 血清水平降低($P < 0.05$),而 HDL-C 血清水平升高($P < 0.01$)。(见表 7)。

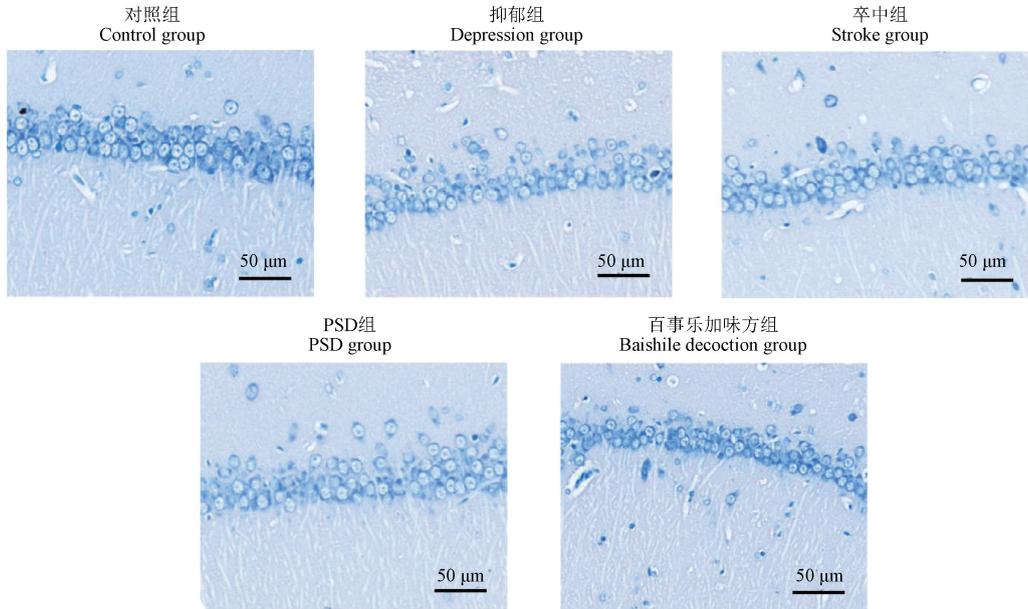


图 4 各组大鼠海马 CA1 区尼氏染色结果

Figure 4 Nissl staining of each group of rats in hippocampus CA1 area

表 4 各组大鼠血清和脑脊液中 5-HT、Glu 含量($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 5-HT and Glu content of each group of rats in serum and cerebrospinal fluid($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	血清 Serum		脑脊液 Cerebrospinal fluid	
	5-羟色胺/(ng/mL) 5-HT/(ng/mL)	谷氨酸/(μ mol/L) Glu/(μ mol/L)	5-羟色胺/(ng/mL) 5-HT/(ng/ml)	谷氨酸/(μ mol/L) Glu/(μ mol/L)
对照组 Control group	253.7 \pm 20.1	18.8 \pm 1.0	276.3 \pm 11.1	16.8 \pm 0.9
抑郁组 Depression group	224.0 \pm 12.4 [●]	22.0 \pm 0.7 ^{●●}	237.3 \pm 15.3 ^{●●}	19.8 \pm 1.4 [●]
卒中组 Stroke group	243.3 \pm 21.0	20.1 \pm 1.3	231.0 \pm 5.9 ^{●●}	19.6 \pm 1.6 ^{●●}
PSD 组 PSD group	201.0 \pm 16.2 ^{●●}	22.9 \pm 0.9 ^{●●}	218.0 \pm 6.0 ^{●●}	22.1 \pm 1.8 ^{●●}
百事乐加味方组 Baishile decoction group	228.0 \pm 10.3 ^{●▲}	20.0 \pm 1.5 ^{▲▲}	251.7 \pm 3.7 ^{●●▲▲}	19.3 \pm 1.2 ^{●●▲▲}

注:与 PSD 组相比,▲ $P < 0.05$ 。(下表同)

Note. Compared with PSD group, ▲ $P < 0.05$. (The same in the following tables)

表 5 各组大鼠舌质、前爪颜色 RGB 值($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 RGB of tongue and forepaws of each group of rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	舌质 Tongue			前爪 Forepaws		
	R	G	B	R	G	B
对照组 Control group	134.2 ± 8.5	73.8 ± 4.8	77.2 ± 5.6	161.1 ± 7.6	112.7 ± 15.5	102.6 ± 15.6
抑郁组 Depression group	127.8 ± 6.9	76.8 ± 8.7	81.8 ± 11.2	151.3 ± 17.4	108.6 ± 8.2	98.3 ± 12.2
卒中组 Stroke group	119.9 ± 3.1 ^{●●}	75.7 ± 7.4	79.3 ± 8.8	122.8 ± 10.0 ^{●●}	87.8 ± 16.0 [●]	82.8 ± 14.5 [●]
PSD 组 PSD group	117.2 ± 5.8 ^{●●}	68.2 ± 9.2	74.6 ± 8.6	126.0 ± 12.1 ^{●●}	81.5 ± 11.3 ^{●●}	70.4 ± 10.4 [●]
百事乐加味方组 Baishile decoction group	130.4 ± 2.5 ^{▲▲}	75.9 ± 5.1	81.7 ± 6.7	148.0 ± 5.1 ^{●●▲▲}	104.9 ± 7.5 ^{▲▲}	94.4 ± 5.9 ^{▲▲}

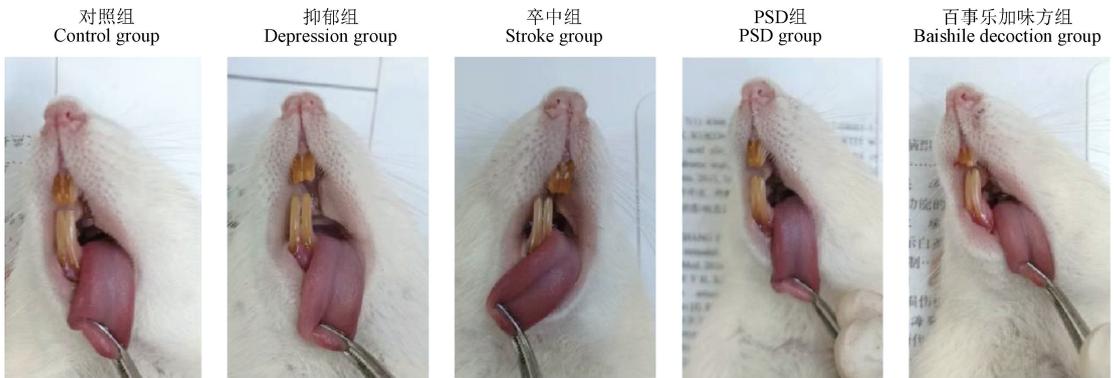


图 5 各组大鼠舌质具体表现

Figure 5 Representation of tongue of each group of rats



图 6 各组大鼠前爪具体表现

Figure 6 Representation of forepaws each group of rats

3 讨论

病证结合模型,以中医病因病机理论为指导,融合西医病理改变,采用多因素复合造模手段,将疾病的病理变化与中医证候特征整合于同一动物模型,模拟临床先诊病后辨证的实际情况,具有较高的模型稳定性和可靠性^[3]。现有动

物模型大多以单一的病理生理模型为主,而疾病的发生是一个动态的过程,涉及多脏腑、多证素,当前单一的模型制备方法具有局限性,难以反映临床疾病复杂多变的病证演变规律^[4-5]。王瑾茜等^[6]研究总结出,病理病因复合因素模型相较于单纯病理模型和病因模型更为贴近临床病证症状。张译心等^[7]表明现代医学“病”和中医

表 6 各组大鼠血液流变学相关指标的变化($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 6 Variation of blood rheology related indicators of each group of rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	血浆黏度/(mPa·s) Plasma viscosity/(mPa·s)	全血黏度/(mPa·s) Blood viscosity/(mPa·s)	红细胞聚集 Red blood cell aggregation	纤维蛋白原/(g/L) Fibrinogen/(g/L)
对照组 Control group	2.16 ± 0.01	24.4 ± 3.8	5.63 ± 0.80	3.95 ± 0.17
抑郁组 Depression group	2.30 ± 0.21	36.3 ± 3.4 ^{●●}	6.50 ± 0.50	4.89 ± 0.29 [●]
卒中组 Stroke group	2.38 ± 0.01 ^{●●}	32.7 ± 4.5 ^{●●}	6.36 ± 0.32	5.24 ± 0.04 [●]
PSD 组 PSD group	2.42 ± 0.08 ^{●●}	43.6 ± 4.5 ^{●●}	7.28 ± 0.32 ^{●●}	5.81 ± 0.04 ^{●●}
百事乐加味方组 Baishile decoction group	1.96 ± 0.27 ^{▲▲}	27.6 ± 4.5 ^{▲▲}	5.36 ± 0.46 ^{▲▲}	4.42 ± 0.57 ^{▲▲}

表 7 各组大鼠血清 TG、TC、LDL-C 和 HDL-C 水平比较($\bar{x} \pm s, n = 6, \text{mmol/L}$)Table 7 Comparison of TG, TC, LDL-C and HDL-C content in serum of each group of rats($\bar{x} \pm s, n = 6, \text{mmol/L}$)

组别 Groups	TC	TG	LDL-C	HDL-C
对照组 Control group	1.411 ± 0.149	0.295 ± 0.074	0.385 ± 0.110	0.659 ± 0.115
抑郁组 Depression group	1.620 ± 0.260	0.414 ± 0.092 [●]	0.577 ± 0.108 [●]	0.451 ± 0.100 ^{●●}
卒中组 Stroke group	1.464 ± 0.140	0.458 ± 0.048 ^{●●}	0.586 ± 0.095 ^{●●}	0.472 ± 0.054 ^{●●}
PSD 组 PSD group	1.689 ± 0.191 [●]	0.576 ± 0.092 ^{●●}	0.924 ± 0.180 ^{●●}	0.262 ± 0.051 ^{●●}
百事乐加味方组 Baishile decoction group	1.331 ± 0.276 [▲]	0.327 ± 0.090 ^{▲▲}	0.454 ± 0.135 ^{▲▲}	0.405 ± 0.081 ^{●●▲▲}

“证”的优势使病症结合模型评价更为直观、客观、可操作,标准更易于统一。疾病模型叠加证候模型构建是当前应用较广泛的中医药科研动物模型,对于探讨疾病病理生理变化与中医证候特征之间的关系显示出极大的优势,是一种重要的中医药疾病动物模型,是沟通中医临床实践和基础研究的关键桥梁^[8-9]。

PSD 作为一个复合性疾病,可将其认为“中风”与“郁证”之合病,在“证候”“病机”方面与原发疾病有所关联,却又有所不同。课题组通过大量 PSD 患者的临床观察,将其病机总结为:中风者,气机逆乱,清气不升,浊气不降,津液不化而成痰,血滞不行而成瘀,以致痰瘀上乘,蒙蔽脑窍,发为“中风”。后因“中风”日久,气机郁结,情志不调,疏泄不已,以致神志昏蒙,发为“郁证”。故 PSD 病位主要在肝、脑,以“郁、瘀、痰”为核心证素。本研究采用“MCAO + CUMS”的联合造模法,并采取与证候要素关联性较高的应激因素制备 PSD 病证结合模型,比如:以孤养、夹尾和束缚

模拟“郁”证候要素特点的表现;以 MCAO 和强迫冰水游泳模拟“瘀”证候要素特点的表现;以禁食禁水、潮湿垫料模拟“痰”证候要素特点的表现。

“有其内必行诸外”是中医诊断学中的关键思想。目前,中医证候的基础研究重点逐步从宏观到微观,定性到定量,进而为中医学的临床实践及推广应用提供可靠的证据。“郁”证候要素与人的神经系统病变密切相关^[10-12]。学习记忆能力下降,好奇探索欲减退,自我奖励机制衰减及绝望情绪较高是 PSD 临床症状中较为普遍的症状。本研究通过水迷宫实验评估动物模型的学习记忆能力,旷场实验评估其好奇探索欲,强迫游泳实验评估其绝望情绪及求生欲,糖水偏好实验评估其自我奖励机制。实验结果表明其模型大鼠出现了明显的抑郁样行为特征,与 PSD 的临床普遍表现具有一致性。5-HT 和 Glu 作为人体内神经递质的主要组成部分,在机体行为、情绪和记忆等生理活动中发挥重要作用,同时在大多中医学“郁证”相关的研究中可观察到强相

关性,因此可作为“郁”证候要素的客观评估指标之一。在临床观察和基础动物实验中,情绪低落、兴趣缺失等“郁”证候要素的典型表现多伴随抑郁行为表现和血清或脑组织中 5-HT、Glu 水平的变化^[13-14]。本实验结果表明在“郁”证候要素的评估中,PSD 大鼠呈现出学习能力、空间认知能力下降,好奇探索欲减退,快感缺失,行为绝望状态明显,同时伴随海马 CA1 区的神经元损伤,神经递质 5-HT 和 Glu 水平代谢异常的情况,符合“郁”证候要素的客观表现。“瘀”证候要素多表现为舌色及爪色紫斑或紫暗等,同时现代研究表明血液的高凝状态及血液流变学的改变是“瘀”证动物模型的典型客观表现^[15]。已有研究表明 PSD 的发生发展与血液流变学的改变具有明显相关性^[16]。因此,本研究通过类比法,通过观察动物模型的舌色、爪色及血液流变学的改变等作为“瘀”证的客观评价指标。本实验结果表明 PSD 大鼠舌质和前爪的 RGB 值均明显下降,呈暗红色,且存在血浆粘度、全血粘度指标较高等血液高凝状态情况,符合“瘀”证候要素的客观表现。机体脂质代谢紊乱已被公认为“痰”证候要素的客观评价指标,其中包含 TG、TC、LDL-C 及 HDL-C 等基本指标。已有大量的研究证明脂质代谢紊乱作为重要影响因素分别参与了脑卒中和抑郁症的发生过程,因此可推测其在 PSD 的发生发展机制中同样发挥作用^[17-18]。高脂饮食摄入可导致机体的脂质代谢紊乱,LDL-C、HDL-C 的血清水平发生负相关性改变,促进普通小鼠抑郁样行为的形成^[19],同样在 MCAO 模型大鼠体内可观察到 TG、TC 等脂质指标的升高,导致其抑郁样行为的发生^[20]。本实验结果表明 PSD 组大鼠的 TC、TG 和 LDL-C 血清水平均上升,而 HDL-C 血清水平下降,存在脂质代谢紊乱,高脂血症的典型表现,符合“痰”证候要素的客观表现。因此联合行为学试验、神经递质水平、脑组织病理损伤、舌质和爪色 RGB 值量化、血液流变学情况、血脂代谢相关指标构建以“郁、瘀、痰”为核心证素的 PSD 病证结合模型客观评价体系是切实可行的。

遵循“方从法出、法随证立”的原则,通过“以方测证”进行验证,本实验中百事乐加味方以姜黄为行气止痛、破血化瘀;柴胡、连翘疏肝解郁,清开升阳;人参、黄芪、菖蒲大补元气,益气活血,

解郁化痰;川芎引药效上乘脑络,活血化瘀解郁。诸药同用,达到疏肝解郁、行气活血、化痰开窍的功效。本研究结果表明百事乐加味方干预能够明显提升 PSD 大鼠学习能力和空间认知能力,活跃度上升,绝望状态减轻,神经递质 5-HT、Glu 水平恢复,脑神经功能损伤减轻,舌质和前爪颜色 RGB 值均上升,血液流变学和脂质代谢指标均逆转。综上所述,经中药干预后明显改善 PSD 大鼠症状及各项客观指标,减轻“郁、瘀、痰”证候要素的表现,表明该模型成功构建,较好地反映了 PSD 的基本证素,该病证结合动物模型可作为 PSD 中医药动物实验研究的基本工具,为中药药理研究、中医药临床实践提供可靠的证据。

参 考 文 献 (References)

- [1] IONESCU D F, PAPA KOSTAS G I. Current trends in identifying rapidly acting treatments for depression [J]. *Curr Behav Neurosci Rep*, 2016, 3(2): 185-191.
- [2] 赵慧辉, 王伟. 病证结合证候模型研究基本思路 [J]. *中华中医药杂志*, 2006, 21(12): 762-764.
ZHAO H H, WANG W. Basic ideas of study on syndrome model of combination of disease and syndrome [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2006, 21(12): 762-764.
- [3] 张晓因, 吴敏, 孙长鑫, 等. 基于病证结合探讨动脉粥样硬化痰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 X N, WU M, SUN C X, 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.
- [4] 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.
- [5] SHABIR O, MOLL T A, MATUSZYK M M, et al. Preclinical models of disease and multimorbidity with focus upon cardiovascular disease and dementia [J]. *Mech Ageing Dev*, 2020, 192: 111361.
- [6] 王瑾茜, 蔺晓源, 刘侃, 等. 冠心病气虚血瘀证病证结合大鼠模型的建立研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(5): 602-609.
WANG J X, LIN X Y, LIU K, et al. Study on the establishment of a rat model of coronary heart disease with qi deficiency and blood stasis [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*,

- 2020, 28(5): 602-609.
- [7] 张译心, 王鑫, 刘博, 等. 2 型糖尿病气阴两虚病证结合动物模型的制备及评价指标的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(2): 219-229.
- ZHANG Y X, WANG X, LIU B, et al. Preparation of animal model of type 2 diabetes with Qi-Yin deficiency syndrome and establishment of evaluation index [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(2): 219-229.
- [8] 张会永, 庞琳琳, 张哲, 等. 小型猪中医动物模型进展及在中医药研究中的应用 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(6): 1266-1269.
- ZHANG H Y, PANG L L, ZHANG Z, et al. Introduction of traditional Chinese medical pig models and the application of mini-pig in Chinese medicine researches [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2014, 32(6): 1266-1269.
- [9] 乔璇, 翟慧婷, 李南熹, 等. 病毒性肺炎中医病证结合动物模型研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 4248-4255.
- QIAO X, ZHAI H T, LI N X, et al. Research progress on combination of viral pneumonia traditional Chinese medicine syndrome animal models [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(12): 4248-4255.
- [10] 李仲贤, 符文彬, 阎路达, 等. 基于谷氨酸和 γ -氨基丁酸水平探讨疏肝调神针法对轻度抑郁症的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(10): 5099-5104.
- LI Z X, FU W B, YAN L D, et al. Effects of acupuncture method of soothing the liver qi and regulating the spirit on mild depression based on levels of glutamate and γ -aminobutyric acid [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(10): 5099-5104.
- [11] 罗莎, 唐少波, 毛燕宁, 等. 基于 5-HT 探讨疏香灸治疗肝郁气滞便秘型肠易激综合症的机制 [J]. 中医药学报, 2020, 48(8): 48-51.
- LUO S, TANG S B, MAO Y N, et al. Mechanism exploration of Shuxiang moxibustion in treating IBS-C of liver-qi stagnation based on 5-HT [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2020, 48(8): 48-51.
- [12] 郭梦霞, 王俊丽, 牛争平. 谷氨酸与慢性偏头痛关系的研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(2): 264-267.
- GUO M X, WANG J L, NIU Z P. Research progress on the relationship between glutamate and chronic migraine [J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis, 2022, 20(2): 264-267.
- [13] MURROUGH J W, ABDALLAH C G, MATHEW S J. Targeting glutamate signalling in depression: progress and prospects [J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(7): 472-486.
- [14] 廖继武, 王丝丝, 杨海华, 等. 抑郁症患者的血清谷氨酸及 γ -氨基丁酸系统水平 [J]. 中国心理卫生杂志, 2020, 34(2): 87-91.
- LIAO J W, WANG S S, YANG H H, et al. Levels of serum glutamate and gamma-aminobutyric acid system in patients with depression [J]. Chin Ment Health J, 2020, 34(2): 87-91.
- [15] 杨会珍, 胡广, 苗兰, 等. 肾上腺素致慢性血瘀证大鼠模型的血浆代谢组学研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(2): 205-209.
- YANG H Z, HU G, MIAO L, et al. Study on plasma metabolomics of rat model of chronic blood stasis syndrome induced by adrenaline [J]. J Basic Chin Med, 2022, 28(2): 205-209.
- [16] QIU H, LIU Y, HE H, et al. The association between mean platelet volume levels and poststroke depression [J]. Brain Behav, 2018, 8(10): e01114.
- [17] XU H B, ZHANG R F, LUO D, et al. Comparative proteomic analysis of plasma from major depressive patients: identification of proteins associated with lipid metabolism and immunoregulation [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2012, 15(10): 1413-1425.
- [18] PEDRO-BOTET J, SENTÍ M, NOGUÉS X, et al. Lipoprotein and apolipoprotein profile in men with ischemic stroke. Role of lipoprotein (a), triglyceride-rich lipoproteins, and apolipoprotein E polymorphism [J]. Stroke, 1992, 23(11): 1556-1562.
- [19] YU H, QIN X, YU Z, et al. Effects of high-fat diet on the formation of depressive-like behavior in mice [J]. Food Funct, 2021, 12(14): 6416-6431.
- [20] HALEY M J, WHITE C S, ROBERTS D, et al. Stroke induces prolonged changes in lipid metabolism, the liver and body composition in mice [J]. Transl Stroke Res, 2020, 11(4): 837-850.

[收稿日期] 2024-07-29