

DOI: 10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-01-09

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

## 活心丸(浓缩丸)下调 TLR4/TNF- $\alpha$ 表达减轻 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠动脉粥样硬化

郑标<sup>1</sup>, 牙侯弟<sup>2</sup>, 余思君<sup>2</sup>, 全嘉银<sup>2</sup>, 钟巧青<sup>3</sup>, 莫中成<sup>1</sup>

(1. 桂林医学院广西糖尿病系统医学重点实验室/组织胚胎学教研室, 桂林 541199; 2. 桂林医学院智能医学与生物技术学院, 桂林 541199; 3. 中南大学湘雅医院心血管内科, 长沙 410008)

**摘要** 目的 探讨活心丸(浓缩丸)对载脂蛋白 E 基因敲除(ApoE<sup>-/-</sup>)小鼠动脉粥样硬化(As)的影响及机制。方法 选取 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠,饲以高脂饮食复制 As 模型,采用不同浓度活心丸和(或)Toll 样受体 4(TLR4)抑制剂处理,随机分为对照组、活心丸处理组、TLR4 抑制剂处理组、活心丸和 TLR4 抑制剂共处理组。苏木素-伊红(HE)染色、马松(Masson)染色观察 As 模型鼠主动脉窦病变情况;油红 O(ORO)染色观察 As 模型鼠主动脉窦及主动脉脂质蓄积情况;免疫组织化学法(IHC)检测 As 模型鼠主动脉窦 TLR4、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )表达情况。结果 与对照组比较,活心丸减轻 As 模型鼠主动脉窦病变,减少主动脉病变处脂质蓄积,降低主动脉窦狭窄程度,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );活心丸还下调 As 模型鼠主动脉窦 TLR4 和 TNF- $\alpha$  表达( $P < 0.05$ ),TLR4 抑制剂与活心丸作用具有协同性。结论 活心丸可以减轻 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠 As 病变,其机制可能与下调 TLR4、TNF- $\alpha$  表达以及调控炎症反应相关。

**关键词:** 活心丸;动脉粥样硬化;Toll 样受体 4;肿瘤坏死因子 $\alpha$

中图分类号:R589

文献标志码:A

文章编号:1008-2409(2024)01-0061-08

## Huoxin pill (concentrated pill) alleviates atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice by down-regulating TLR4/TNF- $\alpha$ expression

ZHENG Biao<sup>1</sup>, YA Houdi<sup>2</sup>, YU Sijun<sup>2</sup>, QUAN Jiakun<sup>2</sup>, ZHONG Qiaoqing<sup>3</sup>, MO Zhongcheng<sup>1</sup>

(1. Guangxi Key Laboratory of Diabetic Systems Medicine, Department of Histology and Embryology, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 2. College of Intelligent Medicine and Biotechnology, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 3. Department of Cardiovascular Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

**基金项目:**国家自然科学基金项目(82060091);自治区级大学生创新创业训练计划项目(S202110601126);北京科创鼎诚医药科技有限公司横向科研课题。

**第一作者:**郑标,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治。

**通信作者:**莫中成, zhchmo@hotmail.com;钟巧青, wendyzhongqiaoqing@gmail.com。

**Abstract Objective** To investigate the effect and mechanism of Huoxin pill (concentrated pill) on atherosclerosis (As) in apolipoprotein E knockout (ApoE<sup>-/-</sup>) mice. **Methods** ApoE<sup>-/-</sup> mice were fed with high-fat diet to replicate As model. The mice were treated with different concentrations of Huoxin pills and Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitor. The mice were randomly divided into control group, Huoxin pill treatment group, TLR4 inhibitor treatment group, and Huoxin pill and TLR4 inhibitor co-treatment group. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Masson staining were used to observe the pathological changes of aortic sinus of As model mice. Oil red O (ORO) staining was used to observe the lipid accumulation in aortic sinus and aorta of As model mice. Immunohistochemistry was used to detect the expression of TLR4 and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in aortic sinus of As model mice. **Results** Compared with the control group, Huoxin pills significantly reduced the aortic sinus lesions, reduced the lipid accumulation in the aortic lesions and the degree of aortic sinus stenosis of As model mice, with a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). In addition, Huoxin pills also down-regulated the expression of TLR4 and TNF- $\alpha$  in aortic sinus of As model mice ( $P < 0.05$ ), and the effect of TLR4 inhibitor and Huoxin pills had a synergistic effect. **Conclusion** Huoxin pills can alleviate As in ApoE<sup>-/-</sup> mice and its mechanism may be related to down-regulating the expression of TLR4 and TNF- $\alpha$  and regulating the inflammatory response.

**Keywords:** Huoxin pill; atherosclerosis; Toll like receptor 4; tumor necrosis factor- $\alpha$

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是慢性血管炎症性疾病, 因 As 引起的心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 发病率及死亡率位居全球首位<sup>[1-3]</sup>。近年来, As 性 CVD 防治取得了显著进展, 但其病因及发生机制复杂, 目前仍未完全明确。因此, 探究 As 的有效防治策略仍是目前亟待研究解决的重要问题。炎症反应参与 As 发生、发展的整个病理过程, 是 As 等心血管疾病的重要病理表现之一<sup>[45]</sup>, 其发生及调控机制复杂<sup>[6-7]</sup>。肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 由单核-巨噬细胞产生, 是参与炎症反应调控的重要细胞因子<sup>[8]</sup>, 在细胞坏死、血管新生、血栓形成及 As 易损斑块形成等过程中发挥重要作用<sup>[9-10]</sup>。Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, TLR4) 作为经典炎症调控因子, 其表达水平与 As 病变呈正相关<sup>[11]</sup>, 可以通过调节 TNF- $\alpha$  等因子的释放, 调控炎症反应<sup>[12-13]</sup>。

活心丸 (浓缩丸) 由灵芝、人工麝香、熊胆等中药原材料配伍而成, 在冠心病、心绞痛、心肌缺血、心功能不全等 CVD 防治中疗效显著<sup>[14-15]</sup>。活心丸具有抑炎作用<sup>[16-17]</sup>, Chu 等<sup>[18]</sup> 研究报道证实活心丸可下调 TLR4 表达, 抑制心血管疾病炎症进展, 提示活心丸在 As 防治中发挥积极作用, TLR4 可能是发挥作

用的重要参与分子。本研究以载脂蛋白 E 基因敲除 (apolipoprotein E knockout, ApoE<sup>-/-</sup>) 小鼠为研究对象, 高脂饲料饲养复制 As 小鼠模型, 活心丸和 (或) TLR4-IN-C34 进行处理, 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色、马松 (masson) 染色、油红 O (oil red O, ORO) 染色、免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 等实验技术观察活心丸对 As 模型鼠主动脉病变及炎症因子 TLR4、TNF- $\alpha$  表达的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 实验鼠为无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠, 由常州卡文斯实验动物有限公司提供 [许可证号: SCXK (苏) 2021-0013]。动物实验取得桂林医学院实验动物伦理委员会批准 (GLMC-IACUC-2022025)。

1.1.2 药物与主要试剂 TLR4-IN-C34 (购自 Med Chem Express), 活心丸 (浓缩丸) (悦康药业集团股份有限公司赠送), Anti-TNF $\alpha$  Antibody (购自博士德生物工程有限公司), TLR4 Antibody (购自 Affinity Biosciences), 4% 多聚甲醛 (购自长沙维世尔生物科技有限公司), OCT 冰冻切片包埋剂 (购自美国

SAKURA 公司),苏木素染液(购自北京 Solarbio 公司),PBS(购自北京 Solarbio 公司),柠檬酸(购自罗恩化学有限公司),柠檬酸钠(购自九鼎化学有限公司),油红 O(购自美国 Sigma-Aldrich 公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 4 周龄雄性 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠(体质量  $20 \pm 2$  g),普通饲料适应性饲养 1 周,随机分为对照组、不同浓度活心丸处理组、TLR4 抑制剂处理组、活心丸和 TLR4 抑制剂联合处理组,高脂饲料饲养 12 周复制 As 模型。

对照组不做处理。不同浓度活心丸处理组选取活心丸灌胃给药,工作浓度分别为 1 mg/kg、2 mg/kg、4 mg/kg,持续 2 周。TLR4 抑制剂处理组选取 TLR4-IN-C34 腹腔注射给药,工作浓度为 1 mg/kg,持续 2 周。活心丸和 TLR4 抑制剂联合处理组选取 2 mg/kg 活心丸和 1 mg/kg TLR4-IN-C34 共同处理,持续 2 周。给药结束后,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,眼球取血致死,分离小鼠心脏及主动脉整体,固定于 4% 多聚甲醛。

1.2.2 冰冻切片 取小鼠心脏组织,流水冲洗 4~6 h;冰冻切片机提前预冷至  $-25$  °C 左右;将心脏组织心尖部分切除,暴露小鼠主动脉窦;置于装有冷冻包埋剂的冰冻样品托,进行切片;同时使用显微镜观察,直至出现完整主动脉窦,切片并室温保存。

1.2.3 HE 染色 取冰冻切片置于 60 °C 烘箱 30 min;采用苏木素染色 5~10 min,流水冲洗;盐酸酒精分化 3~5 s,流水冲洗 20~30 min 反蓝;伊红染液染色 1~3 min,流水冲洗;依次放入 95%乙醇、无水乙醇 I、无水乙醇 II、二甲苯 I、二甲苯 II 各 5 min 脱水透明,晾干,中性树胶封片,显微镜观察拍照。

1.2.4 Masson 染色 取冰冻切片置于 60 °C 烘箱 30 min;采用苏木素染色 5~10 min,流水冲洗;Masson 蓝化液返蓝,流水冲洗;丽春红染色液染色 5~10 min,流水冲洗;磷酸盐溶液冲洗 1~2 min;苯胺蓝染色液中染色 1~2 min;冰醋酸冲洗 1 min;依次放入 95%乙醇、无水乙醇 I、无水乙醇 II、二甲苯 I、二甲苯 II 各 5 min 脱水透明,晾干,中性树胶封片,显

微镜观察拍照。

1.2.5 ORO 染色 主动脉窦:取冰冻切片置于 60 °C 烘箱 30 min;滴加适量 ORO 染液染色 8~15 min;流水冲洗;苏木素染核 5~8 min,流水冲洗返蓝;晾干,中性树胶封片,显微镜观察拍照。主动脉整体:使用眼科镊将主动脉整体周围脂肪组织剔除,使用剪刀将血管剖开,置于 ORO 染色液染色 8~15 min,盐酸酒精终止分化,显微镜观察拍照。

1.2.6 IHC 取冰冻切片置于 60 °C 烘箱 2 h;采用枸橼酸钠溶液进行抗原修复;滴加内源性过氧化物酶阻断剂进行内源性过氧化物酶阻断;一抗 4 °C 孵育过夜,PBST 清洗;滴加反应增强液,室温孵育 20 min,PBST 清洗;二抗 37 °C 孵育 30 min,PBST 清洗;滴加 DAB 显色液,室温孵育 5~8 min;反蓝、透明;晾干,中性树胶封片,显微镜观察拍照。

## 1.3 统计学方法

采用 Prism 8 统计软件处理数据,计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,用  $t$  检验或单因素方差分析。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

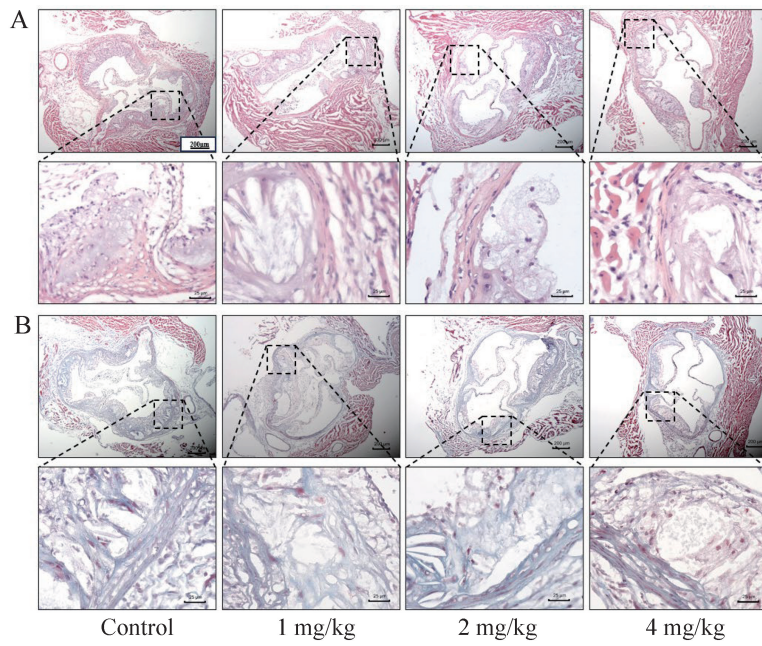
## 2 结果

### 2.1 活心丸抑制 As 模型鼠主动脉窦病变

病变部位脂质斑块以及钙盐物质异常蓄积是 As 重要病理特点之一。采用 HE 染色、Masson 染色观察 As 模型鼠主动脉窦病变情况(图 1A、B)。结果发现:与对照组比较,活心丸处理组小鼠主动脉窦斑块钙化及血管纤维化程度降低,提示活心丸可以减轻 As 模型鼠主动脉窦病变,发挥抗 As 作用。

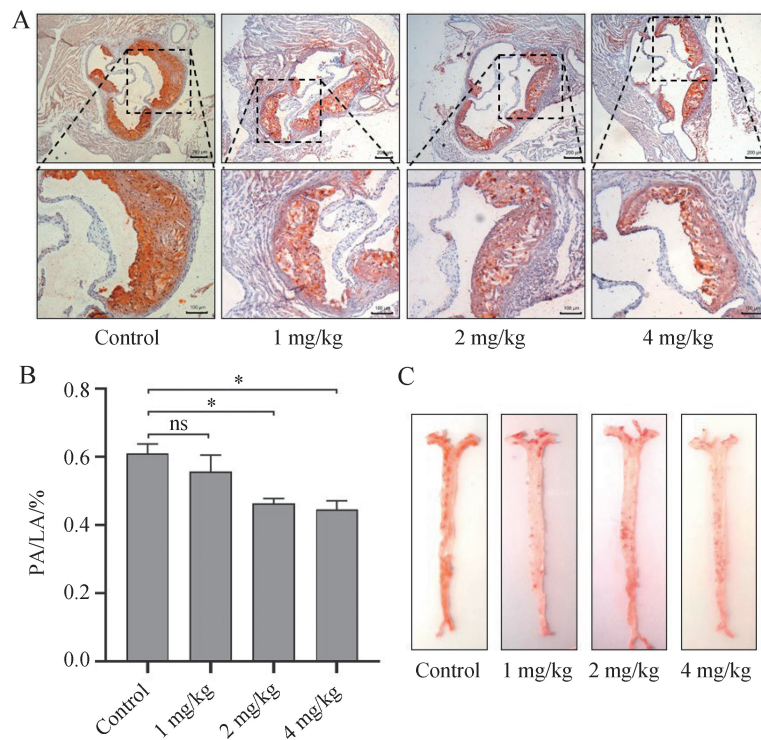
### 2.2 活心丸抑制 As 模型鼠主动脉窦与主动脉整体脂质蓄积

采用 ORO 染色观察 As 模型鼠主动脉窦及主动脉整体脂质蓄积情况。结果发现:与对照组比较,活心丸明显抑制 As 模型鼠主动脉窦及主动脉整体脂质蓄积(图 2A、C),降低 As 模型鼠主动脉窦狭窄率(图 2B),提示活心丸可能通过抑制 As 模型鼠病变部位脂质蓄积发挥抗 As 作用。



注:A. HE 染色观察 As 模型鼠主动脉粥样斑块钙化情况;B. Masson 染色观察 As 模型鼠主动脉粥样病变部位纤维化情况(虚线矩形表示高倍镜视野)。

图 1 活心丸抑制 As 模型鼠主动脉粥样病变



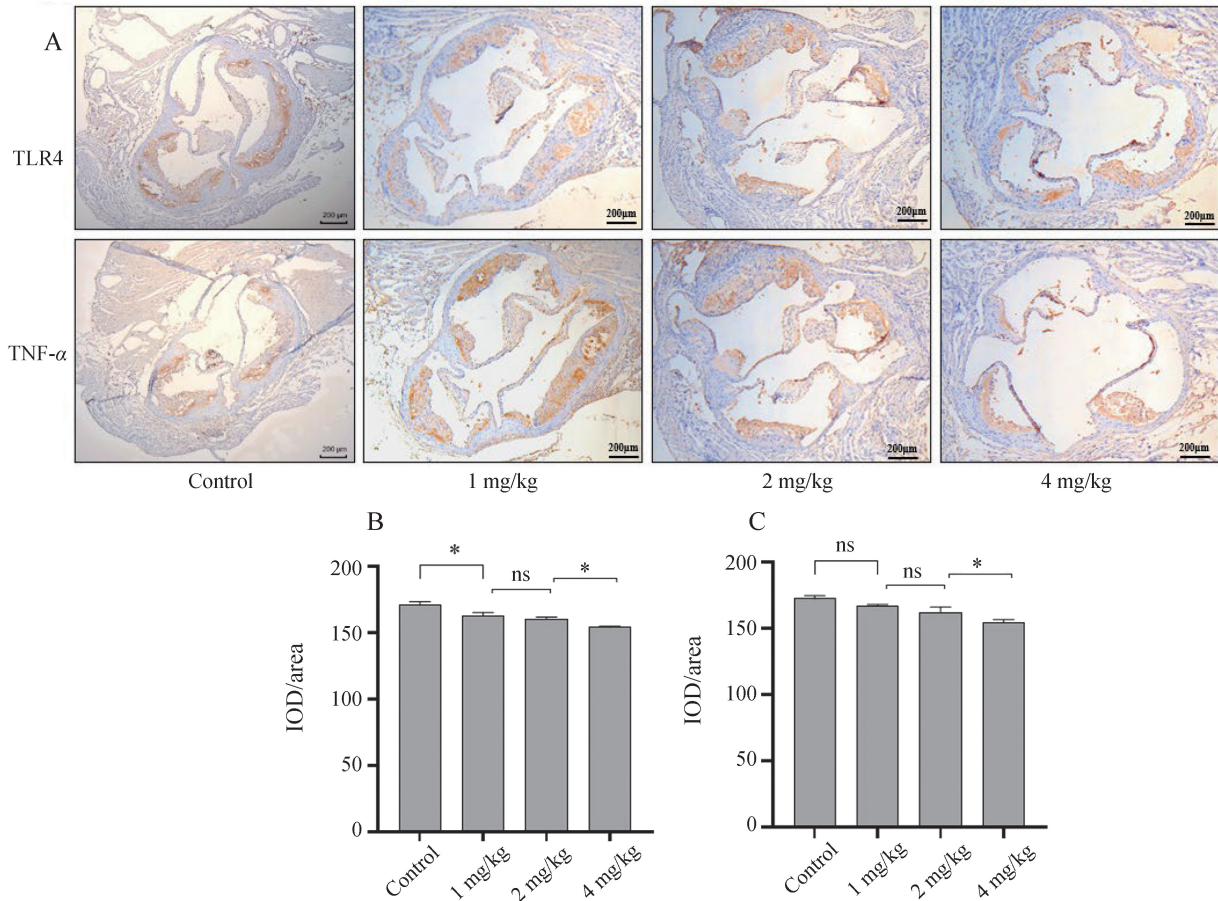
注:A. ORO 染色观察 As 模型鼠主动脉粥样脂质蓄积情况(虚线矩形表示高倍镜视野);B. 主动脉粥样狭窄率;C. ORO 染色观察 As 模型鼠主动脉整体脂质蓄积情况;与对照组比较, \*  $P < 0.05$ 。

图 2 活心丸抑制 As 模型鼠主动脉粥样与主动脉大体脂质蓄积

### 2.3 活心丸抑制 As 模型鼠病变部位炎症反应

炎症反应是 As 进展的重要病理特征之一<sup>[7, 19]</sup>。采用 IHC 检测 As 模型鼠主动脉窦炎性因子 TLR4 和 TNF- $\alpha$  表达情况。结果发现:与对照组比较,活心

丸明显下调 As 模型鼠主动脉窦 TLR4 和 TNF- $\alpha$  表达(图 3A、B、C),提示活心丸可能通过调控 TLR4/TNF- $\alpha$  通路抑制 As 模型鼠主动脉窦炎症反应,发挥抗 As 作用。



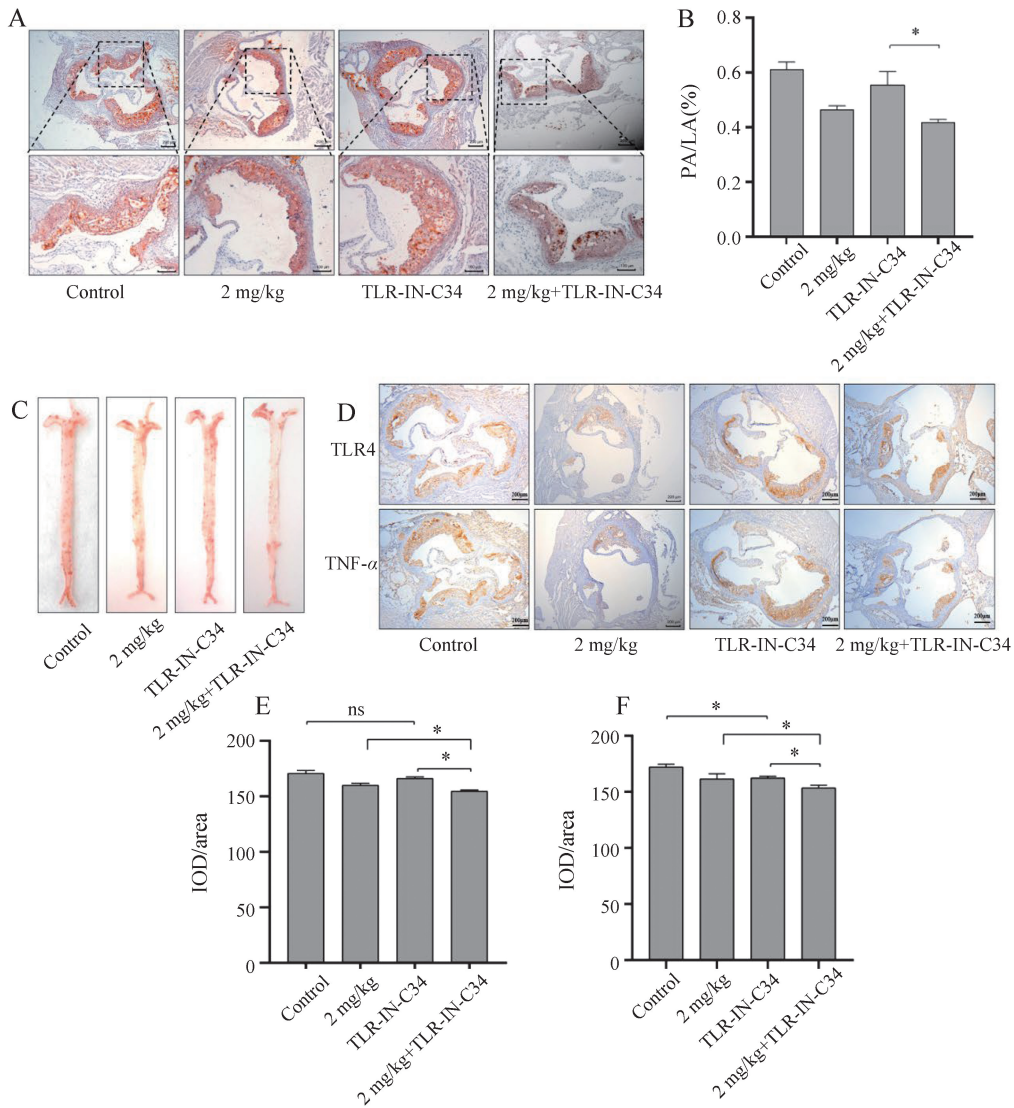
注:A. IHC 检测 As 模型鼠主动脉窦 TLR4、TNF- $\alpha$  表达情况;B. TLR4 表达量统计分析图;C. TNF- $\alpha$  表达量统计分析图;与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

图 3 活心丸抑制 As 模型鼠病变部位炎症反应

### 2.4 TLR-IN-C34 和活心丸在 As 治疗中的协同作用

TLR4 抑制剂 TLR-IN-C34 和(或)活心丸处理 As 模型鼠。采用 ORO 染色观察 As 模型鼠主动脉窦及主动脉整体脂质蓄积情况(图 4A、B、C),IHC 检测 As 模型鼠主动脉窦炎性因子 TLR4 和 TNF- $\alpha$  表达情

况(图 4D、E、F)。结果发现:与对照组比较,活心丸显著抑制 As 模型鼠主动脉窦及主动脉整体脂质蓄积,下调 As 模型鼠主动脉窦 TLR4 和 TNF- $\alpha$  表达,TLR4-IN-C34 处理作用与活心丸协同。



注:A. ORO 染色观察 As 模型鼠主动脉粥样硬化脂质蓄积情况(虚线矩形表示高倍镜视野);B. 主动脉粥样硬化狭窄率;C. ORO 染色观察 As 模型鼠主动脉整体脂质蓄积情况;D. IHC 检测 As 模型鼠主动脉粥样硬化 TLR4、TNF- $\alpha$  表达情况;E. TLR4 表达量统计分析图;F. TNF- $\alpha$  表达量统计分析图;与对照组比较,\*  $P < 0.05$ 。

图 4 TLR-IN-C34 和活心丸在 As 治疗中的协同作用

### 3 讨论

《中国心血管健康与疾病报告 2022》<sup>[20]</sup>指出,截止到 2022 年中国 CVD 患者人数约 3.3 亿,并且呈现上升趋势。As 作为 CVD 重要病理基础,炎症反应、脂质蓄积、动脉壁纤维化为其主要病理表现,严重威胁患者身心健康及生存质量<sup>[21-23]</sup>。针对 As 患者,目前临床治疗方法主要是饮食、运动、药物(降脂、降压、血管扩张类等药物)及手术等,在 As 患者情绪调节及血管功能改善等方面发挥积极作用<sup>[24-26]</sup>。但上述干预方式仅仅针对 As 患者相关症状具有一定减

缓作用,其作用效果具有一定时效性。因此,寻求副作用小且效果显著的治疗方式仍是 As 研究的重要方向。

活心丸作为一种中药制剂,在心肌细胞凋亡、心肌纤维化、心肌缺血损伤等 CVD 的防治中得到广泛应用<sup>[18, 27-28]</sup>。有研究结果证实<sup>[15]</sup>,活心丸可以通过 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路抑制心肌缺血再灌注模型鼠病变部位氧化还原反应,减轻炎症,发挥保护作用。He 等<sup>[14]</sup>研究证实,活心丸可以通过减轻心肌梗死所致的炎症反应,在缺血性心肌梗死疾病中发

挥积极作用, Wnt/ $\beta$ -catenin 是活心丸发挥作用的重要调控机制。本研究中, 高脂饲料饲养 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠复制 As 模型, 采用不同浓度活心丸灌胃处理, 结果发现, 活心丸可以抑制 As 模型鼠病变部位斑块钙化及血管纤维化, 减少脂质斑块蓄积, 在抗 As 方面发挥积极作用。

As 作为一种多因素驱动的慢性炎症性血管疾病, 重要病理特征表现为巨噬细胞、单核细胞等炎症细胞浸润并释放炎症因子。因此, 探究炎症性 As 中发挥作用的调控分子并寻求靶向调控药物是 As 防治的重要策略之一。TLR4 作为炎症反应重要调控因子介导的信号通路参与 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎症因子释放, 在 As 发病过程中发挥重要作用<sup>[29-30]</sup>。本研究发现, 随着活心丸浓度升高, ApoE<sup>-/-</sup>小鼠主动脉病变部位炎症因子 TLR4、TNF- $\alpha$  水平降低, As 进展受到抑制。TLR-IN-C34 处理后, 其作用与活心丸协同, 这提示活心丸可能通过抑制病变部位炎症反应发挥抗 As 作用, TLR4 是此过程中重要参与分子。但是, 本研究选取小鼠作为对象, 未涉及到细胞模型实验, 活心丸的临床实际治疗作用具有一定的局限性。并且, 本研究选用的活心丸为丸剂复合药物, 其具体作用成分不够明确, 仍需进一步实验探究验证。

#### 4 结论

本研究探究活心丸对 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠 As 病变的影响, 结果提示, 中成药活心丸可以改善 As 模型鼠病变情况, 其作用机制可能与下调 TLR4、TNF- $\alpha$  表达以及调控炎症反应相关。

#### 参考文献

[1] 鄂璐莎, 田志强, 王婷. 金丝桃苷通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路对动脉粥样硬化小鼠的干预作用[J]. 广西医学, 2023, 45(3): 302-308.

[2] FAN J L, WATANABE T. Atherosclerosis: known and unknown[J]. Pathol Int, 2022, 72(3): 151-160.

[3] LIANG Y, WANG M X, WANG C, et al. The mechanisms of the development of atherosclerosis in prediabetes[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8): 4108.

[4] 周雪玲. 基于 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨活心丸抗急性心机缺血炎症反应的作用机制[D]. 福州: 福建中医药大学, 2020.

[5] MIYABE M, NAKAMURA N, SAIKI T, et al. Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharides promote proliferation and migration of human vascular smooth muscle cells through the MAPK/TLR4 pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 24(1): 125.

[6] MEYER-LINDEMANN U, MAUERSBERGER C, SCHMIDT A C, et al. Colchicine impacts leukocyte trafficking in atherosclerosis and reduces vascular inflammation[J]. Front Immunol, 2022, 13: 898690.

[7] KONG P, CUI Z Y, HUANG X F, et al. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 131.

[8] GU H F, LI N, XU Z Q, et al. Chronic unpredictable mild stress promotes atherosclerosis via HMGB1/TLR4-mediated downregulation of PPAR $\gamma$ /LXR $\alpha$ /ABCA1 in ApoE<sup>-/-</sup> mice[J]. Front Physiol, 2019, 10: 165.

[9] MARUSHCHAK M, KRYNYTSKA I, FEDECHKO M, et al. Effects of the therapy combining calcium and vitamin D3 supplement with calcitonin on bone tissue density in patients with coronary heart disease complicated with chronic heart failure[J]. Pol Merkur Lekarski, 2019, 47(280): 128-133.

[10] ZHOUX L, CHEN X F, ZHANG L, et al. Mannose-binding lectin reduces oxidized low-density lipoprotein induced vascular endothelial cells injury by inhibiting LOX1-ox-LDL binding and modulating autophagy[J]. Biomedicine, 2023, 11(6): 1743.

[11] 李嘉慧, 王欣佩, 冷静. TLR4/NF- $\kappa$ B 参与动脉粥样硬化发生发展机制的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(4): 137-142.

[12] MENG D, DENG X, WU Y, et al. Corilagin ameliorates macrophages inflammation in atherosclerosis through TLR4-NF $\kappa$ B/MAPK pathway[J]. Heliyon, 2023, 9(6): e16960.

[13] GONZÁLEZ-CARNICERO Z, HERNANZ R, MARTÍNEZ-CASALES M, et al. Regulation by Nrf2 of IL-1 $\beta$ -induced inflammatory and oxidative response in VSMC and its relationship with TLR4[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1058488.

[14] HE J, WO D, MA E, et al. Huoxin pill prevents excessive inflammation and cardiac dysfunction following myocardial infarction by inhibiting adverse Wnt/ $\beta$  catenin signaling activation[J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154293.

[15] CAO C, QI Y T, WANG A A, et al. Huoxin pill reduces

- myocardial ischemia reperfusion injury in rats via TLR4/NF $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway[J]. *Chin J Integr Med*, 2023,29(12):1066-1076.
- [16] GAO Z W, ZHANG X, ZHUO Q Y, et al. Metabolomics and integrated network pharmacology analysis reveal attenuates cardiac hypertrophic mechanisms of HuoXin pill[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 292:115150.
- [17] PENG M Z, YANG M L, SHEN A L, et al. Huoxin pill() attenuates cardiac fibrosis by suppressing TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 pathway in isoproterenol-induced heart failure rats [J]. *Chin J Integr Med*, 2021, 27(6):424-431.
- [18] CHU J F, ZHOU X L, PENG M Z, et al. Huoxin pill attenuates cardiac inflammation by suppression of TLR4/NF- $\kappa$ B in acute myocardial ischemia injury rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020:7905902.
- [19] WANG Z T, GAO Z Y, ZHENG Y H, et al. Melatonin inhibits atherosclerosis progression via galectin-3 downregulation to enhance autophagy and inhibit inflammation[J]. *J Pineal Res*, 2023, 74(3):e12855.
- [20] 马丽媛,王增武,樊静,等.《中国心血管健康与疾病报告 2022》要点解读[J]. *中国全科医学*, 2023, 26(32):3975-3994.
- [21] SEDDING D G, BOYLE E C, DEMANDT J A F, et al. Vasa vasorum angiogenesis: key player in the initiation and progression of atherosclerosis and potential target for the treatment of cardiovascular disease [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:706.
- [22] 梁晓鹏,郭彩霞,马杰,等.活心丸(浓缩丸)治疗冠心病稳定性心绞痛的多中心、随机、双盲、安慰剂对照临床研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(3):289-294.
- [23] POZNYAK A V, BHARADWAJ D, PRASAD G, et al. Anti-inflammatory therapy for atherosclerosis: focusing on cytokines[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13):7061.
- [24] HEO J, KANG H. Exosome-based treatment for atherosclerosis[J]. *Int J MolSci*, 2022, 23(2):1002.
- [25] SATNY M, HUBACEK J A, VRABLIK M. Statins and inflammation[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2021, 23(12):80.
- [26] TOKGÖZO ĞLU L, LIBBY P. The dawn of a new era of targeted lipid-lowering therapies [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(34):3198-3208.
- [27] 苏雯.悦康活心丸(浓缩丸)方解及其组方特点的分析[J]. *北方药学*, 2021, 18(3):184-185.
- [28] SHEN Z Q, SHEN A L, CHEN X P, et al. Huoxin pill attenuates myocardial infarction-induced apoptosis and fibrosis via suppression of p53 and TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130:110618.
- [29] XING Y J, PAN S, ZHU L, et al. Advanced glycation end products induce atherosclerosis via RAGE/TLR4 signaling mediated-M1 macrophage polarization-dependent vascular smooth muscle cell phenotypic conversion [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022:9763377.
- [30] CUI S Y, WU H L, HE Q, et al. Fucoxanthin alleviated atherosclerosis by regulating PI3K/AKT and TLR4/NF $\kappa$ B mediated pyroptosis in endothelial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 120:110370.

[收稿日期:2023-10-16]

[责任编辑:桂根浩 英文编辑:覃涛]