

气滞血瘀证动物模型研究现状

刘楠^{1,2}, 姜云耀^{1,3}, 李莹^{1,2}, 侯金才³, 刘建勋^{1*}

(1. 中国中医科学院西苑医院, 基础医学研究所, 中药药理北京市重点实验室, 北京 100091;
2. 北京中医药大学研究生院, 北京 100029; 3. 京津冀联创药物研究(北京)有限公司, 北京 100083)

[摘要] 气滞血瘀证是临床常见证型,它的形成与饮食、情绪、环境等因素有关。随着现代人们生活节奏的加快和生活压力的加大,情志不舒在所难免,再加上饮食油腻等方面的原因,很容易引发气滞血瘀型疾病。临床研究和治疗大都停留在外部宏观手段和技术上,很难对证型发展的微观改变及证型演变规律进行深入系统的了解,这就需要制作和临床发病机制相关的动物模型。为了了解近些年气滞血瘀证及病证结合动物模型研究的现状,本文就造模方法、检测指标及造模原理等方面进行综述。气滞血瘀证常见的造模方法有肾上腺素法、右旋糖酐法、声光电复合刺激法、束缚法、夹尾法、高脂寒凝法、睡眠剥夺法等。模型成功与否的验证指标主要为血液流变学指标,其次还有旷场试验、微循环、体重、神经递质、血管内皮因子等方面的检测。常见的气滞血瘀证病证结合模型有子宫内异位症气滞血瘀证模型、气滞血瘀证妇科疾病特点模型、糖尿病气滞血瘀证模型、非小细胞肺癌气滞血瘀证模型、气滞血瘀型慢性非细菌性前列腺炎等。不同的造模方法应用不同,本文通过将近些年造模方式、原理、检测指标进行汇总,为规范气滞血瘀证动物模型提供基础。

[关键词] 气滞血瘀证; 造模方法; 检测指标; 病证结合模型; 原理

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)01-0217-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018010217

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170926.1018.014.html>

[网络出版时间] 2017-09-26 10:18

Current Status of Animal Model Research of Qi Stagnation and Blood Stasis Syndrome

LIU Nan^{1,2}, JIANG Yun-yao^{1,3}, LI Ying^{1,2}, HOU Jin-cai³, LIU Jian-xun^{1*}

(1. Beijing Key Laboratory of Pharmacology of Chinese Materia Medica, Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;
2. Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
3. Jing-Jin-Ji Joint Innovation Pharmaceutical (Beijing) Co. Ltd., Beijing 100083, China)

[Abstract] Syndrome of blood stasis with Qi stagnation is a common clinical syndrome and the formation is closely related to the diet, mood, environment and other factors. With the quickening pace of modern life and the increasing pressures of life, emotional discomfort is inevitable. In addition, greasy diet and other factors are easy to cause Qi stagnation and blood stasis diseases. Clinical research and treatment most stay in the external macro-means and technology, so it is difficult to understand systematically and deeply about the microcosmic changes of syndrome development and the rule of syndrome evolution. This needs to establish animal models that are related to the clinical pathogenesis. In order to understand the research status about animal models of Qi stagnation and blood stasis syndrome and disease-syndrome combination, the modeling methods, model validation and principles were reviewed in this paper. The common modeling methods of Qi stagnation and blood stasis syndrome include adrenaline method, dextran method, acousto-optic complex stimulation, binding method, clipping tail method,

[收稿日期] 20170610(001)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2015CB554405);国家重大研发计划匹配项目(Z161100002616024)

[第一作者] 刘楠, 硕士, 从事中药药理研究, Tel:010-62835622, E-mail:18810494266@163.com

[通信作者] *刘建勋, 博士, 博士生导师, 研究员, 从事中药药理研究, Tel:010-62835601, E-mail:liujx0324@sina.com

high fat plus cold coagulation, sleep deprivation and so on. The hemorheology indexes are the leading indicator of model validation, followed by open field test, and microcirculation, weight, neurotransmitter, vascular endothelial factor and other tests. The common disease-syndrome combination models of Qi stagnation and blood stasis syndrome include the models of Qi stagnation and blood stasis syndrome with endometriosis, Qi stagnation and blood stasis syndrome with gynecological disease characteristics, Qi stagnation and blood stasis syndrome with diabetes, Qi stagnation and blood stasis syndrome with non-small cell lung cancer, and Qi stagnation and blood stasis syndrome with chronic non-bacterial prostatitis. Different modeling methods are used in the different applications. We summarized the modeling methods, principles and testing indicators in recent years to standardize the animal model of Qi stagnation blood stasis syndrome.

[Key words] Qi stagnation and blood stasis syndrome; modeling method; detection index; disease-syndrome combination models; principle

气滞血瘀证是临床常见证型,多由情志不舒,或外邪侵袭引起肝气久郁不解所致,存在气滞和血瘀两种病理状态,常会引发多种疾病,如妇科疾病、冠心病^[1]等,危害人类健康。气血,是维持人体生命活动的基本物质,来源于水谷,化生于脏腑。《难经本义》云:“气中有血,血中有气,气与血不可须臾相离,乃阴阳互根,自然之理也。”气血作为一个整体参与生理活动,水谷精微在五脏功能作用下化生为气血。气属阳,主动,起温煦作用;血属阴,主静,起濡养作用。气能生血、行血和摄血,气为血之帅;血能生气和载气,血为气之母。一旦气机郁滞而致血行瘀阻,就会出现气滞血瘀证。

现阶段对气滞血瘀证的发病机制,病、生理过程以及疾病的进展过程知之甚少,再加上临床研究会受到多方面限制,很多实验无法在患者身上进行,因此急需找到一个合适的动物模型,对证型进行深入研究。气滞血瘀证病变机制一般有3种^[2],①气机运行不畅,致血行瘀滞,先气滞而后血瘀;②离经之血等瘀血阻滞,影响气的运行,先血瘀而后气滞;③脉络自身病变,气滞与血瘀同时形成。依据文献调查结果得知,气滞血瘀证形成与饮食^[3]、情绪^[4]、环境^[5-6]等因素有关,且需要一个较长的过程。喜食油腻、甜食,血脂过高,或饮食过咸,饮水不足等均能使血液黏稠,导致气血运行不畅^[3]。长期紧张、抑郁、情绪暴躁,影响气血运行,肝气久郁,久而致瘀^[4]。《东医保健·内景篇》谓:“寒则血涩”。寒则气滞血凝,生活环境寒冷,血管长期收缩痉挛,会导致血液运行迟缓或凝滞^[5]。气滞血瘀的临床表现为舌质紫暗或有瘀斑、性情急躁易怒、肋下痞块、刺痛拒按、胸胁胀满或走窜疼痛、妇女痛经兼有瘀血,色紫暗等^[7]。“气滞血瘀,百病丛生”,气滞血瘀证宜用行气、活血药疏通气血,达到“以通为补”的目

的,避免大怒、惊恐、忧思等不良情绪对气血运行的影响^[8]。

目前,国内气滞血瘀证动物模型的建立以大鼠为主要实验动物,其次还有兔子。之所以考虑到用大鼠建立气滞血瘀证模型,是因为其脾气暴躁,易怒伤肝;凝血过程与人类接近,具有高凝倾向;模型易于推广(价廉、易操作),并且便于多学科综合研究^[4]。通过建立气滞血瘀证动物模型,人们能够对证候的发展过程进行直观了解,观察各器官、组织的病,生理状态改变的情况,还可对气滞血瘀证进行基因组学、蛋白组学等方面的研究,甚至可以通过证候的发展程度了解疾病的进程,用于新药研发等方面。依据气滞血瘀证发病机制,动物模型的建立主要通过干预饮食、情绪、环境等方面进行。通过对近些年的文献整理研究发现,常见的气滞血瘀证动物模型的制作方法是基于药物干预和(或)生物应激方式进行的,主要有皮下注射肾上腺素、尾静脉注射右旋糖酐、皮下注射四氯化碳(CCl_4)、束缚、夹尾、声光电复合刺激、高脂寒凝刺激、睡眠剥夺等;模型制作成功的依据主要是通过检测模型大鼠的血液流变学、微循环、体重、行为学等指标或通过药物反证法验证。随着模型研究的发展和临床研究的需要衍生出了几种气滞血瘀证病证结合模型,其中包括子宫内异位症气滞血瘀证模型、气滞血瘀证妇科疾病特点模型、糖尿病气滞血瘀证模型、非小细胞肺癌气滞血瘀证模型以及气滞血瘀型慢性非细菌性前列腺炎模型。由于实验环境和平台的不同,模型制作存在诸多问题,如缺乏特异性指标和量化标准,模型的评价标准与临床检测指标相比太过单一,没有对模型进行中医系统的评价,缺乏规范化的评价体系等。本文通过对近些年来气滞血瘀证及病证结合模型的制作方法、原理及验证指标等方面进行整理、归纳,

并结合文献数据研究,总结了模型的制作及评价标准,以期能对气滞血瘀证模型的研究进行规范,并为深入研究该模型和临床治疗疾病提供参考。

1 气滞血瘀证动物模型制备方法

1.1 药物干预

1.1.1 肾上腺素(Adrenaline, Adr)法 急性气滞血瘀模型用0.1% Adr皮下注射($0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),慢性模型用0.01% Adr连续注射7 d($0.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每天1次^[9]。观察模型组大鼠血液流变学指标的变化,并用中药丹参、川芎反证验证模型是否成功。该模型的原理为模拟长时间精神抑郁制造大鼠气滞血瘀模型,中医认为肝主疏泄,疏泄太过或不及都能影响气血的运行。躁狂时人体内的肾上腺素明显增加,一次性大剂量给予Adr模拟机体的躁狂状态,而持续小剂量的给药则是模拟肝气久郁,肝气久郁不解,血液瘀滞。通过对该模型的血流动力学进行研究,章正祥等^[10]发现皮下注射Adr 1 h后血流速度减慢,而且这种血液低流速的状态可以至少维持1 h。这个发现提示应用该模型进行药物作用的评价应当在注射Adr后1~2 h进行。

在这个模型的基础上有学者建立了微循环气滞血瘀模型。将大鼠麻醉后通过手术暴露大鼠的肠系膜,显微镜下观察正常大鼠肠系膜微循环状态,之后滴加0.1%的Adr 0.05 mL,作用1 min后用生理盐水洗脱,造模完成^[11]。Adr可以直接收缩肠系膜血管平滑肌,导致微循环障碍,形成微循环气滞血瘀,造模时间短,操作简便,模拟机体暴怒状态,符合中医七情致瘀。

1.1.2 右旋糖酐法 大鼠尾静脉注射10%高分子右旋糖酐($5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),1 h后取血^[12]。这种造模方式更偏重于血瘀,其原理是高分子右旋糖酐被红细胞吸附,使红细胞相互凝聚,从而导致红细胞作用异常,进而影响血液流变学指标的变化^[13]。该模型复制简单快速,值得注意的是,必须快速注射右旋糖酐,否则被血液稀释后效果不明显^[12]。

1.1.3 CCl₄法 通过控制饮食、饮水和皮下注射CCl₄的方法制作模型。以玉米面为食料(前2周为80%玉米面,20%猪油),混以0.5%胆固醇,饮用水含有10%乙醇。第1天皮下注射经菜籽油处理过的CCl₄($5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),后每隔4 d注射1次($30 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),共10次^[14]。肝主疏泄,CCl₄损伤肝脏,使肝气不足,疏泄无力,导致血瘀,同时采用不合理饮食方式长期饲养,造成动物脾气虚弱,气虚则气血运行无力,加重血瘀。实验发现模型组大鼠肝细

胞大量坏死导致肝脏质量减轻,同时脾脏瘀血肿大、质量增加,经过对证给药鳖甲煎丸后模型大鼠症状好转。

1.2 生物应激

1.2.1 束缚法 将大鼠放置于狭小筒状空间,束缚大鼠自主运动,每天3 h,共3周。研究表明束缚可以诱导大鼠应激,使大鼠血浆促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)含量增加^[15],久之会导致肝气郁滞。钟小兰等^[16]对模型大鼠进行蛋白质组差异表达研究认为肝主疏泄功能的正常可能和实体肝组织中的特异表达蛋白质-芳基氨基转移酶、烯酰辅酶A水合酶和转甲状腺素蛋白的不同表达密切相关。

1.2.2 冰水浴法 《黄帝内经》认为引发血瘀证的主要致病因素是寒邪和情志失调。成秀梅等^[5]应用寒邪机制,将大鼠置于0~1℃的冰水浴中,每天1次,每次20 min,连续2周建立寒凝血瘀模型。实验发现模型组大鼠出现精神萎靡、蜷缩少动、爪尾部紫暗、耳色暗红等现象,微循环和血液流变学指标也有显著性差异,用温经汤治疗后症状得到明显改善。

1.2.3 慢性应激刺激法 包括24 h断食断水,4℃冰水游泳,24 h昼夜颠倒等方式^[17]。以不可预知的刺激制作气滞血瘀模型,避免适应现象。情志异常是肝气郁滞和气滞血瘀的主要病因,由于不良生活环境造成大鼠长期处于应激状态^[18],肝在调解这种应激中起决定性的作用^[19],肝脏长期处于超负荷工作状态会导致肝脏损伤,加重气滞血瘀。

1.2.4 夹尾法 夹尾刺激大鼠,每3 h 1次,每次30 min,每天4次^[4]。大鼠属于性情暴躁易发怒的动物,给以低强度夹尾刺激能使大鼠互相撕打,达到怒伤肝致血瘀的目的。中医认为百病皆生于郁,由于情志不遂或精神刺激导致肝气郁滞,进而血行不畅,导致血瘀形成,进而加重血液流变学的改变^[20]。

1.2.5 睡眠剥夺 采用小平台法对大鼠进行快速眼动睡眠剥夺。大鼠除换水外其余时间均进行睡眠剥夺,持续7 d,记录大鼠下平台后第1次睡眠潜伏期,>30 min,即造模成功^[21]。睡眠剥夺可以改变神经化学物质,动物出现易怒,好斗等情况,情绪波动大,肝气郁滞,再加上长期不眠不休,耗伤津液,使血液黏稠。

1.2.6 高脂寒凝法 饲喂高脂饲料(1%胆固醇,7.5%猪油,0.2%丙基硫氧嘧啶,0.3%胆盐,10%蛋黄粉,81%基础饲料),且每日置于0~2℃冰水中

20 min, 每日 1 次, 连续 2 周^[22]。高脂寒凝法是高脂血症与寒凝血证模型的结合, 兼有两者的特点, 对血液流变学及凝血参数影响较为显著。其中胆盐可促进胆固醇的吸收^[23], 丙基硫氧嘧啶为甲状腺抑制药物, 有升血脂的作用^[24]。总胆固醇水平的升高会使血压升高、冠状动脉硬化增加以及左心室体积与室壁厚度增加、降低心肌收缩和舒张功能, 使血流减慢^[25-26]。血脂异常引起心脏的病变, 高脂膳食还可影响心脏的重构^[27], 造成左心室舒张末期容量和压力的升高^[28]。

1.2.7 声光电复合刺激 采取不可预知的慢性应激刺激, 包括大鼠足底电击刺激(11 ± 1) h [电压(30 ± 5) V, 持续 1 ~ 2 min, 间隔 8 ~ 15 min], 噪声刺激(11 ± 1) h [噪音频率(10 ± 5) kHz, 强度等级 3, 持续 1 ~ 2 min, 间隔 8 ~ 15 min], 闪烁光刺激[频率(2 ± 1) Hz, 持续 1 ~ 2 min, 间隔 8 ~ 15 min], 以及 24 h 昼夜刺激。以上刺激平均在 7 d 中各进行 1 次, 连续重复 6 周^[6]。研究发现气滞血瘀证大鼠血清与正常大鼠相比信号转导及凝血机制启动相关蛋白的表达量上升^[29], 给予模型组大鼠血府逐瘀汤后可改善这些改变, 表明血府逐瘀汤治疗气滞血瘀证的作用机制可能与这些差异表达的蛋白有关, 同时为血府逐瘀汤作用的分子机制研究提供了新的思路^[30]。

情志异常是肝气郁滞和气滞血瘀的主要病因, 情志学说和应激理论二者都认为“心”与“身”相关^[31], 机体受到外界刺激做出适当反应, 过或不及都会导致疾病的产生。采用电针刺激引起惊、恐、怒等情绪制作气滞血瘀证模型。电针反复刺激会使动物产生疼痛、惊恐、激怒等情志反应, 使其交感神经处于亢进状态, 血液中的去甲肾上腺素及儿茶酚胺含量升高。一方面可使红细胞聚集黏附, 血管收缩, 造成微血管扭曲、变形, 血管张力及弹力下降, 外周血管动脉顺应性降低, 外周阻力增大, 血流缓慢, 血行瘀滞; 另一方面儿茶酚胺类物质增多则微血管特别是细动脉以及毛细血管收缩, 管径缩小, 致使细动脉管径和细静脉管径之比明显缩小, 导致血流障碍^[32-35]。

此外, 也可应用电刺激建立家兔气滞血瘀证模型。具体方法为每天上午九点用粘有胶布的夹子夹住兔的尾巴(以产生疼痛但是不造成皮肤损伤为度), 使其保持激怒状态 45 min。每天下午 3 点于家兔双腿分别刺入针灸针, 断续电刺激 6 h, 共 3 周。实验期间同时喂食高脂高糖饲料^[36]。根据 1986 年

修订的血瘀证诊断标准, 造模 3 周后模型均具有舌质紫暗或有瘀斑、微血管异常、微循环障碍、血液流变学异常等特点, 符合血瘀证的诊断, 具有较强的中医特色。胡文娟等^[37-38]观察家兔模型球结膜微循环气滞血瘀证组以部分血管扭曲, 瘤样改变, 血流速度减慢为主, 还可见微血管通透性增高, 血管边缘模糊。

1.2.8 声光电复合刺激加夹尾刺激 怒伤肝, 久则郁。两种方式结合能最大程度的模拟中医七情所伤而致气滞血瘀。牛雯颖等^[39]应用这种造模方式造模 15 d 后发现模型组大鼠体重显著降低, 鼠尾出现不同程度的瘀斑, 反应灵敏, 对外界刺激敏感, 好斗、暴躁、易怒、易受惊、大小便失禁、便溏^[39-40]。红细胞膜上的 Na⁺-K⁺-ATP 酶及超氧化物歧化酶活力降低, 并且唾液酸含量降低, 但是全血黏度及红细胞变形性等未发生显著变化, 但都有相应趋势出现^[39-40], 活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT) 缩短明显, 丙二醛(malondialdehyde, MDA) 增加明显^[40]。将造模时间延长到 6 周, 模型组血脂水平下降, 红细胞变形性、心功能均发生异常, 说明情志的损伤随应激的适应, 具有一定的时间窗^[41]。

1.2.9 多因素复合刺激 王婷婷等^[42]采用正交设计对气滞血瘀证模型的 8 个影响因素进行分析, 发现有意义的试验因素由主到次依次为声光电刺激、夹尾、盐酸肾上腺素、束缚、冰水浴。另外 3 个因素禁食禁水、昼夜颠倒和 45 度倾斜对气滞血瘀证模型建立影响甚微。之后王婷婷等^[43-45]对多因素生物应激气滞血瘀证模型进行了研究, 模型组大鼠出现活动量减少、反应迟钝、被毛无光泽、舌质紫黯、体重增长缓慢、饮食量下降、易怒等现象, 全血高、中、低切黏度与血浆黏度明显升高, 纤维蛋白原含量明显升高, 一氧化碳(NO)/一氧化氮合成酶(NOS)体系和硫化氢(H₂S)/胱硫醚-γ-裂解酶(CSE)体系下调。

1.3 化学试剂加生物应激

1.3.1 ADR 加冰水浴复合低温冷冻法 单一因素寒或怒都能引发血行不畅, 利用这一机制, 赵艳等^[46]采用 ADR 加冰水游泳的方法进行急性造模。大鼠背部皮下注射 ADR (0.8 mg·kg⁻¹), 共 2 次, 间隔 4 h, 在第 1 次皮下注射 ADR 2 h 后, 将大鼠置于冰水中 5 min, 第 2 次皮下注射 ADR 后间隔 20 h 取材验证, 血液流变学指标改变明显, 血浆黏度和纤维蛋白原含量明显升高, 大鼠出现舌质紫黯现象^[43]。随着模型的广泛使用, 李伟霞等^[47]研究发现 ADR 剂

量、冰浴时间、取血时间和大鼠性别等因素是大鼠急性模型能否成功复制的主要影响因素,并通过实验验证最优方案。其最优造模方法为雌性大鼠(200 ± 20) g 皮下注射 0.8 mg · kg⁻¹ Adr, 冰浴 4 min, 第 2 次注射 Adr 后 12 h 取血。

贾丹兵等^[48]对模型进行优化,从“寒邪”和“气滞”两方面入手,通过皮下注射 Adr, 4 °C 冰水游泳和 -20 °C 持续低温冷冻 4 h 的方式,探索大鼠寒凝气滞血瘀证模型,并与单一因素模型各项指标进行对比。结果表明复合组大鼠血液流变学黏、凝、聚等现象最为明显,体温下降显著,还出现寒战、唇周发黑、爪尾部紫暗、体重减轻等现象。通过与 Adr 和冰水浴法相比,采用 -20 °C 持续低温冷冻 4 h 的方

式更符合临床气滞血瘀证“久病”、“慢病”的特点,和中医证候的特点相吻合。

1.3.2 ADR 加夹尾法 第 1 周每天夹尾 4 次间隔 2 h, 每次刺激 4 min。第 2 周每天夹尾 8 次间隔 1 h, 每次刺激 5 min, 在第 4 次夹尾后皮下注射 ADR (0.6 mg · kg⁻¹), 4 h 后再次注射 ADR。结果发现与空白组比较,气滞血瘀证模型组全血黏度、血浆黏度、血沉 K 值、血浆胆固醇(cholesterol, CHO)及纤维蛋白原(Fibrinogen, FIB)含量显著升高,红细胞变形指数、血浆甘油三酯显著降低,APTT,凝血酶原时间(prothrombintime, PT)显著缩短,红细胞膜 MDA, CHO 含量显著升高,符合血瘀证的客观诊断标准,说明本模型符合中医血瘀证模型^[49]。见表 1。

表 1 气滞血瘀证动物模型制备方法及原理

Table 1 Preparation methods and principle of animal model of Qi stagnation and blood stasis syndrome

造模类型	模型动物	制备方法	造模原理	评价标准	参考文献
化学试剂	雌性 Wistar 大鼠	皮下注射 ADR	模拟机体的躁狂状态,导致肝郁气滞	血液流变学指标	[9]
化学试剂	Wistar 大鼠	肠系膜滴加 ADR	ADR 可以直接收缩肠系膜血管平滑肌,导致微循环障碍	微循环肠系膜血管状态, 血色, 流速, 交织点	[11]
化学试剂	SD 大鼠	尾静脉注射高分子右旋糖酐	红细胞相互凝聚,导致红细胞作用异常,血液流变学指标改变	血液流变学,组织型纤溶酶原激活剂活性, FIB, 纤溶酶原激活剂抑制物活性	[12]
化学试剂	SD 大鼠	高脂、乙醇饮食和皮下注射 CCl ₄	CCl ₄ 损伤肝脏,肝气不足,导致血瘀。不合理饮食导致脾虚,气血运行无力,加重血瘀	肝、脾的质量及病理状态的改变,谷丙转氨酶含量	[13]
生物应激	雄性 Wistar 大鼠	将大鼠置于狭小筒状空间,束缚其运动	诱导机体处于躁狂状态,怒伤肝	行为学的改变,β-内啡肽, ACTH 和皮质酮含量	[15]
生物应激	雌性 SD 大鼠	冰水浴	寒冷因素可以使血液运行停滞,导致血瘀	症状表现,血液流变学,微循环, ET, NO 含量	[5]
生物应激	雄性 SD 大鼠	24 h 断食断水, 4 °C 冰水游泳, 24 h 昼夜颠倒等方式	诱导机体处于应激状态,导致情志异常	糖水实验,血浆中 ACTH 含量	[17]
生物应激	雄性 Wistar 大鼠	夹尾	诱导机体处于躁狂状态,怒伤肝	行为观察,血液流变学,血小板超微结构电镜观察	[4]
生物应激	SD 大鼠	睡眠剥夺	不寐耗伤津液,机体处于躁狂状态复合七情学说	自主行为,睡眠潜伏期	[21]
生物应激	雄性 SD 大鼠	高脂饲料、冰水游泳	高脂饮食使心脏发生病变,血流减慢,血脂异常,再加上寒凝导致气血运行不畅,气滞血瘀	血液流变学指标,凝血四项	[22]
生物应激	雄性 SD 大鼠	电击刺激、噪声刺激、闪烁光刺激	诱导机体处于应激状态,长期暴怒导致情志异常	血脂,血液流变学指标,凝血 4 项,血管活性因子	[6]
生物应激	日本大耳兔	夹尾、电刺激、高脂饲料	高脂饲料诱导血脂异常,生物应激导致情志异常	表征,舌像,球结膜微循环障碍	[36]
生物应激	Wistar/雄性 SD 大鼠	声光电 + 夹尾	最大程度的模拟中医七情所伤而致气滞血瘀	症状表现,血脂,血液流变学指标,凝血 4 项	[39-41]
生物应激	Wistar 大鼠	多因素复合	生物应激加情志异常,多因素模拟机体不良情绪状态	症状表现,血液流变学指标,凝血 4 项	[43]
化学试剂 + 生物应激	雄性 SD 大鼠	ADR + 冰水浴	情志异常加寒凝血滞	症状表现,耳温、肛温,血液流变学指标	[46]
化学试剂 + 生物应激	Wistar 大鼠	ADR + 夹尾	情志异常加生物应激	血液流变学指标,凝血 4 项	[49]

2 病证结合模型

辨证论治是中医诊断疾病的特色,也是中医认识和治疗疾病的基础和依据^[50]。随着多种气滞血瘀证模型的建立和临床研究需求,各种病证结合模型也应运而生。刘丹彤等^[51]利用束缚、皮下注射 Adr 等操作建立了子宫内膜异位症(endometriosis, EMT)气滞血瘀证大鼠模型。有研究采用雌性 SD 大鼠建立了适合研究气滞血瘀证妇科疾病特点的模型并建立了评价标准^[52-53]。另有研究通过灌胃中药完成对 2 型糖尿病病证结合动物模型的研究^[54-56]。除此之外还有非小细胞肺癌气滞血瘀证模型^[57-58]、大鼠气滞血瘀型慢性前列腺炎模型^[59]等。病证结合模型的研究模式是中医学历史发展的必然,也是中西医结合的具体体现^[60],气滞血瘀证也正朝着这个方向发展。

2.1 子宫内膜异位症气滞血瘀证模型 动情期雌性 SD 大鼠建立 EMT 模型术后 1 周建立气滞血瘀证模型(1 周内交替进行夹尾、束缚、食用油灌胃、皮下注射 Adr 操作)持续 4 周,从消化、感觉、运动、神经内分泌等角度,模拟气滞血瘀证致病因素及微观环境变化。通过观察宏观表现和测定微观指标的方式评价模型建立情况。大鼠出现精神萎靡、易激惹、喜蜷缩、舌质紫黯等情况,血清 NO, ET 含量显著升高,单胺类递质去甲肾上腺素(norepinephrine, NE),多巴胺(dopamine, DA)含量显著升高^[51-52]。

2.2 气滞血瘀证妇科疾病特点模型 雌性 SD 大鼠每天皮下注射 Adr ($0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 4 h 后接受慢性不可预见性刺激(昼夜颠倒, $0 \sim 4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰水游泳 4 min, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱热烘 10 min, 60 dB 噪音刺激 3 h, 悬尾 10 min), 每次随机给予一种刺激, 整个周期中每种刺激各 3 次^[53]。以血液流变学、凝血 4 项指标、四诊信息(爪、尾、舌数码拍照; 体温检测; 体重; 摄食量; 心电图采集; 旷场自主活动)、证候积分综合评价模型。传统医学认为情志异常是妇科气滞血瘀证的主要病因, 采用慢性不可预见性刺激模型可以使大鼠长期处于应激状态, 引起许多消极被动的反应。采用小剂量肾上腺素长期注射法, 可以模拟人体暴怒的状态。

2.3 糖尿病气滞血瘀证模型 SD 大鼠高脂饲料喂养 4 周, 4 周后尾静脉注射链脲佐菌素, 5 d 后对注射链脲佐菌素($35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的大鼠进行血糖随机测定, $\geq 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 模型成功。气滞血瘀证组再用黄连 9 g, 石膏 30 g 按 $13 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药, 4 周后进行

验证^[54]。黄连味苦性寒, 入心经, 大剂量应用黄连, 可以造成寒邪侵入血分, 寒性凝滞, 血得寒则凝涩不流而成瘀; 石膏味甘辛性寒, 入肺经, 大量应用可直伤机体肺脏, 影响血液运行。模型大鼠除具有糖尿病大鼠的共同特征, 如精神不振、饮水增多、尿量增多、生长迟缓、身体消瘦、蜷缩外, 还有背毛减少、臀部毛色枯黄、易激惹、捕捉时叫声频繁、抵抗力大、攻击行为频繁、大便质稀色深、直肠温度降低、舌质暗等气滞血瘀证的症状^[54-56], 体内甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白、皮质醇、血栓素 B_2 水平升高, 胰岛素, 血清游离三碘甲腺原氨酸, 6-酮-前列腺素 $F1\alpha$ 水平降低。

2.4 非小细胞肺癌气滞血瘀证模型 雄性 C57BL/6 小鼠, 每天上午 10 点进行颈背部皮下注射 0.1% Adr ($0.08 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 并用生理盐水调整液体体积为 0.2 mL, 持续 1 周, 同时用绷带细条束缚小鼠四肢, 并加笼外木棒敲击 5 min, 持续 7 d 建立气滞血瘀证模型, 之后建立小鼠肺癌模型^[57]。肾上腺素模拟机体暴怒状态, 束缚和敲击使小鼠处于长期生物应激状态导致情志异常。模型组小鼠表现为聚堆, 易激惹, 活动少, 进食量减少, 形体显瘦, 毛发散乱, 口周、齿印、爪甲、耳缘以及肛周有 1~3 处不同程度的脉络瘀血, 体重下降明显, FIB, NE, DA, D-二聚体含量显著增高, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)含量降低^[57-58]。经验证气滞血瘀证组小鼠微观指标与宏观表征稳定, 符合发病机制, 模型制备成功。

2.5 气滞血瘀型慢性非细菌性前列腺炎 雄性 SD 大鼠去势后, 皮下注射苯甲酸雌二醇 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 并予以声光电、夹尾、束缚等联合刺激 4 周。采用生物应激的方式使大鼠长期处于躁狂状态, 导致情志异常。4 周后检测模型组全血黏度, 若明显升高, 则表明气滞血瘀证造模成功^[59]。

3 指标验证

气滞血瘀证以情志异常为主导, 累及气、血、脏腑发生病理改变, 应以临床实际为指导, 从主证、兼证、旁证和反证验证模型, 采用国内外先进的研究技术和理论, 对模型进行系统深入从整体到分子层面的研究^[60-61]。

3.1 观察指标

3.1.1 一般行为 刚开始大鼠出现急躁易怒、互相撕咬、饮食饮水减少等情况, 进而体毛无光泽、体重下降、困倦、精神萎靡, 严重者会出现爪和尾部紫暗, 耳色暗红, 舌质紫暗等症^[4, 42]。根据大鼠的一般行为对模型组大鼠进行量化分级证候评分, 主要涉

及大鼠精神状态、舌、毛、粪便等一般行为指标^[53]。

3.1.2 行为学指标 旷场试验中,气滞血瘀证模型组大鼠自主行为活动减少^[15,21],理毛行为出现显著差异^[62];糖水实验中,模型组大鼠糖水摄入量明显少于正常组大鼠^[17]。在行为学的探究中,动物处于新奇环境中探究事物的行为,活动度大小,紧张及恐惧状态,警觉性等都可以通过旷场实验来检测,垂直活动主要体现动物对于新鲜环境的好奇程度,水平活动则体现动物活动度,粪便粒数可以反映出大鼠的紧张与恐惧程度^[63]。“快感缺失”是肝郁气滞证的典型症状之一,检测动物对于幸福事件体验能力可以选择糖水偏好实验,实验动物对糖水喜爱程度与消耗量明显降低,体现其对奖励敏感度低,因此可以作为动物愉悦反映能力的指标之一^[64-65]。另外肝郁型动物还有抑郁少动、反应迟缓等行为表现^[66]。

3.2 检测指标

3.2.1 血液 凝血 4 项,模型组凝血时间明显缩短^[22];血液流变学相关指标(全血黏度、血浆黏度、血小板聚集性、血小板形态、体外血栓形成等)也发生了改变,血液黏稠、血小板形态发生改变等^[22,47];血脂(总胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白等)升高^[6];激素和神经递质(β -内啡肽,NE,DA,5-HT)发生显著改变。内啡肽主要在血流动力学和内分泌调解起作用^[67-68],机体受到外界刺激血浆中 β -内啡肽含量升高,下丘脑、垂体前叶中的含量下降^[69]。中枢单胺类神经递质中的 NE,DA,5-HT 等被认为与肝郁气滞证有着密切的关系,DA 在中枢神经系统中主要起着调控情绪的作用;NE 以兴奋为主,能引起急躁、易怒等激动情绪;5-HT 则以抑制为主,能够引起抑郁情绪^[70]。

3.2.2 血管 ①微循环(肠系膜微循环血流速度、血管直径、毛细血管数、毛细血管开放数等)发生障碍^[42];②血管活性因子(降钙素基因相关肽,血管紧张素 II,内皮素(endothelin,ET),血栓素 B₂,前列腺素 2,NO/NOS 等)也发生了显著改变^[6,44]。ET 具有强大的血管收缩作用,NO 具有极强的血管扩张作用,它的增多会引起细胞毒性反应,使微循环障碍加剧^[71]。

3.2.3 舌象 选取舌固定位置,读取 R,G,B 的色度,依据国际标准的定量进行分析,研究发现模型组大鼠舌质偏暗,呈青紫状态^[53]。

3.2.4 体重和体温 模型组大鼠体重降低^[14]。寒凝法对大鼠耳温和肛温进行检测结果为模型组体温

降低,差异显著^[48]。

3.2.5 心功能 射血分数、短轴缩短率、舒张末期左室内径、收缩末期左室前壁厚度等^[40]。

4 讨论

综上所述可以发现气滞血瘀模型主要从两方面入手,一是用过量或毒性药物造成急、慢性损伤来制作模型,二是通过情志刺激改变动物生理状态来造模^[72]。情志刺激会引起机体内下丘脑-垂体-肾上腺轴的调节,机体内 ACTH 显著升高^[73-74],进而促进皮质酮的分泌,皮质酮分泌过多又会抑制 ACTH 的释放,形成负反馈调节机制。此外应激还会使机体内儿茶酚胺含量增加,可能会导致大鼠肠道^[75]、肺^[76]和孤束核^[77]的损伤。现行模型的评价主要按照西医微观指标(血液流变学、活性因子、神经递质等)和中医证候指标(如症状、体征、脉象和舌象等)进行。到目前为止气滞血瘀证模型的制备已经有了一定的实验基础,但是还没有一个公认的气滞血瘀证模型制备方法。

之所以还没有公认的气滞血瘀证模型原因在于①中医的致病因素存在非特异性的特点,一种病因可导致多种疾病,同一种疾病又可由不同的病因引起,所以模拟中医传统病因建立的动物模型,把一或两个病因加在动物身上并不一定能够得到想要的证候^[78-79];②缺乏规范化的评价体系,中医治病的特点是辨证论治,“证”的判定是对中医望、闻、问、切四诊的综合,但是,动物模型很难用“四诊”方法加以判定,既缺乏量化指标又缺乏与临床患者对应的症状体征^[79-82],导致进一步研究受到限制;③中医特色不强,中医理论认为“怒伤肝,久则郁”,肝郁则气滞,气滞则血瘀,因而瘀血是一个长期的过程,注射肾上腺素、去甲肾上腺素、高分子右旋糖苷等方法造模周期短^[79];④目前模型的复制及评价具有相当大的人为倾向性。复制模型制作水平不高,随意性强,缺乏量化标准,实验过程中经常忽略技术细节,没有认真思考气候环境以及动物的生物学特性等诸多因素对模型制作的影响,实验未达到标准化、规范化。评价,中医传统的血瘀证有四大主证,即痛、肿块、瘀斑和出血,判断是否是血瘀必须具有其中一个主证。如果不细致观察模型动物的外在表现,仅以实验室指标,如血液流变学为依据,其说服力是不够的。

临床上对于气滞血瘀证患者进行了血流动力学、血液流变学、血管内皮及神经内分泌功能、基因分析、血脂及炎症标志物、细胞化学含量等方面的检

测,为动物模型相关检测指标提供临床依据,但是缺乏特异性、敏感性的指标^[83]。想要成功制备气滞血瘀证模型,首先需要对证候名词术语进行规范,其次对传统宏观诊断进行量化研究,最后将微观指标纳入^[84]。

[参考文献]

[1] 任建勋,刘建勋,林成仁,等. 冠心病不稳定性心绞痛患者气滞血瘀证和气虚血瘀证的生物学基础比较分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(4): 352-356.

[2] 王均宁,韩涛,路广林. 从《内经》血瘀理论探讨血瘀致病的临床特征[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(2): 13-14.

[3] 刘剑刚,张红霞,董国菊,等. 高脂饲料结合免疫损伤、应激所致高脂血症血瘀模型的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(S1): 17-20.

[4] 须惠仁,傅湘琦,向丽华,等. 肝郁证的动物实验研究——激怒刺激对大白鼠血液流变学的影响[J]. 中医杂志, 1991, 32(6): 45-48.

[5] 成秀梅,杜惠兰,李丹. 寒凝血瘀证动物模型的创建[J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11(8): 604-605.

[6] 任建勋,林成仁,王敏,等. 多因素整合建立气滞血瘀证动物模型研究[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 210-211.

[7] 宁天一,王婷婷,程嘉艺. 气滞血瘀证大鼠 H₂S/CSE、CBS 体系的变化[J]. 中药药理与临床, 2012, 30(5): 234-237.

[8] 高嘉良,陈光,何庆勇,等. 治疗气滞血瘀证中成药组方规律分析[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 187-191.

[9] 和岚,蒋文跃,毛腾敏. 注射肾上腺素模拟“气滞”复制急、慢性血瘀模型初探[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(3): 244-246.

[10] 章正祥,曹克刚,王芬,等. 皮下注射肾上腺素复制气滞血瘀模型的血流动力学初探[J]. 天津中医药, 2011, 28(1): 9-11.

[11] 王艳,郑国庆,王明杰,等. 治风活血法对微循环气滞血瘀模型的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(13): 1689-1691.

[12] 刘丽芳,曾群,金蓉鸾,等. 中药水蛭各部位提取物对高分子葡聚糖所致大鼠血瘀模型的影响[J]. 中成药, 2003, 25(7): 589-590.

[13] 陈守强. 高黏血症动物模型研究进展[J]. 中国微循环, 2003, 7(6): 395-396.

[14] 任宏义,任周新. “气滞血瘀”证动物模型的建立[J]. 实验动物科学, 1994, 11(3): 29-31.

[15] 唐已婷,陈家旭. 三种中药复方对慢性束缚应激大鼠下丘脑—垂体—肾上腺轴的调节[J]. 北京中医药大学

学报, 2002, 25(3): 23-26.

[16] 钟小兰,吕志平,钱令嘉,等. 束缚所致肝郁证动物模型肝组织蛋白质组的差异表达研究[J]. 中医杂志, 2006, 47(5): 371-373.

[17] 金光亮,南睿,郭霞珍. 慢性应激肝郁证大鼠模型的建立[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(2): 18-21.

[18] 金光亮. 论情志与情志病因[J]. 中华中医药杂志, 1997, 12(3): 9-11.

[19] 李峰,杨维益,梁嵘,等. 从中医学看肝脏调节应激反应的作用[J]. 北京中医药大学学报, 1998, 21(1): 20-22.

[20] 王阶,陈可冀,翁维良,等. 血瘀证诊断标准的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(10): 585-587, 589.

[21] 赵日霞,郭瑾,唐纯志,等. 针刺治疗对躁狂模型大鼠行为学及睡眠潜伏期的影响[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(4): 412-415.

[22] 宋程程,王志斌,苏斌,等. 常用大鼠血瘀证模型的比较研究[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(2): 94-98.

[23] 侯万儒. 胆盐的生理作用[J]. 生物学通报, 1990, 35(11): 17, 21.

[24] 王友兰,胡志宇,张凤翔,等. 丙基硫氧嘧啶对正常 Sprague-Dawley 大鼠脂肪代谢的影响[J]. 中国医学研究与临床, 2003, 1(12): 9-10.

[25] Velagaleti R S, Massaro J, Vasan R S, et al. Relations of lipid concentrations to heart failure incidence: the Framingham Heart Study[J]. Circulation, 2009, 120(23): 2345-2351.

[26] Rubinstein J, Pelosi A, Vedre A, et al. Hypercholesterolemia and myocardial function evaluated via tissue doppler imaging[J]. Cardiovasc Ultrasound, 2009, 7(1): 56-62.

[27] Martins F, Campos D H S, Pagan L U, et al. High-fat diet promotes cardiac remodeling in an experimental model of obesity[J]. Arq Bras Cardiol, 2015, 105(5): 479-486.

[28] Maczewski M, Maczewska J. Hypercholesterolemia exacerbates ventricular remodeling in the rat model of myocardial infarction[J]. J Card Fail, 2006, 12(5): 399-405.

[29] 苗兰,潘映红,任建勋,等. 气滞血瘀证模型大鼠血清蛋白质组学初步研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(2): 106-107.

[30] 苗兰,潘映红,任建勋,等. 血府逐瘀汤对气滞血瘀证大鼠血清蛋白质组表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(4): 24-28.

[31] 周象贤,周萍. 七情学说与应激理论之特征比较[J].

- 医学与哲学,2001,22(6):49-50.
- [32] 袁肇凯,黄献平,范伏元,等.心病气血辨证面色变化特点及面部血管容积图检测分析[J].中医杂志,2001,42(3):173-175.
- [33] 袁肇凯,杨运高,黄献平.气滞血瘀证与气虚血瘀证面色及面部血流图观察[J].中国中西医结合杂志,1995,15(12):734.
- [34] 张永杰,黄西园.冠心病气滞气虚血瘀证血液流变学及心功能比较[J].辽宁中医杂志,1996,23(9):394.
- [35] 胡志希,袁肇凯,顾星,等.基于光电血流容积中医色诊脉诊的研究与对策[J].中西医结合心脑血管病杂志,2006,4(9):782-785.
- [36] 吴锐,穆松牛,余淑娇.五种血瘀证亚型实验家兔模型的比较研究[J].河南中医,2010,30(2):146-147.
- [37] 胡文娟,张秉韬,吴锐.5种血瘀证亚型家兔模型球结膜微循环改变的比较[J].中国中西医结合杂志,2013,33(9):1261-1266.
- [38] 胡文娟,张秉韬,吴锐.气虚血瘀证与气滞血瘀证家兔模型的球结膜微循环改变比较[J].新中医,2013,45(4):168-171.
- [39] 牛雯颖,张玉昆,武爽,等.气滞血瘀模型大鼠红细胞膜生物学研究[J].中国当代医药,2013,20(14):6-8.
- [40] 李丽琦.三种血瘀模型红细胞膜生物学差异性及其寒冷刺激血瘀模型方证相关实验研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2012.
- [41] 梁耀月,李佳佳,董世芬,等.3种不同血瘀证动物模型的建立与评价[J].中国药理学通报,2016,32(10):1468-1473.
- [42] 王婷婷,贾乘,陈宇,等.大鼠气滞血瘀证模型的建立及影响因素分析[J].中国中药杂志,2012,37(11):1629-1633.
- [43] 王婷婷,贾乘,宁天一,等.两种气滞血瘀证造模方法的比较[J].中华中医药学刊,2013,31(1):157-158.
- [44] 宁天一,王婷婷,姜静,等.气滞血瘀证大鼠 NO/NOS 体系的变化[J].世界中医药,2013,8(1):71-73.
- [45] 宁天一,王婷婷,程嘉艺.气滞血瘀证大鼠 H₂S/CSE、CBS 体系的变化[J].中药药理与临床,2012,28(5):234-237.
- [46] 赵艳,于昕,时丽丽,等.消栓通络方有效成分组对大鼠急性血瘀模型的影响[J].药学学报,2012,47(5):604-608.
- [47] 李伟霞,黄美艳,唐于平,等.大鼠急性血瘀模型造模方法的研究与评价[J].中国药理学通报,2011,27(12):1761-1765.
- [48] 贾丹兵,于淼,李乃民,等.寒凝气滞血瘀证大鼠动物模型的建立及评价[J].中医药信息,2014,31(4):75-77.
- [49] 秦书芝.三首活血化瘀方药对气滞血瘀模型大鼠红细胞膜生物学指标的研究[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2014.
- [50] 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.
- [51] 刘丹彤,马小娜,张小勇,等.子宫内膜异位症气滞血瘀证大鼠模型的建立及评价[J].中医药学报,2012,40(2):31-35.
- [52] 马小娜,刘丹彤,闫军堂,等.两种子宫内膜异位症大鼠模型的血液流变学及单胺类神经递质比较研究[J].中华中医药学刊,2012,30(1):179-181.
- [53] 李炜,段金殿,刘培,等.采用雌性 SD 大鼠探索建立适宜于气滞血瘀证妇科疾病特点的模型评价体系[J].中国中药杂志,2013,38(8):1211-1218.
- [54] 李敬林,王太一,王禄增,等.2型糖尿病证病结合动物模型的研究[J].中国比较医学杂志,2007,17(8):473-475.
- [55] 陈嘉斌,柴可夫,郑杨,等.三种方法建立糖尿病气滞血瘀证大鼠模型的对比实验研究[J].浙江中医药大学学报,2013,37(3):234-239.
- [56] 蒋继宏.2型糖尿病大鼠血瘀气滞模型实验研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2006.
- [57] 鲁兴隆.肺抑瘤膏治疗非小细胞肺癌气滞血瘀证临床观察与实验研究[D].济南:山东中医药大学,2015.
- [58] 彭召云,郑心,鲁兴隆.肺抑瘤膏对气滞血瘀质 Lewis 肺癌小鼠肿瘤生长及 VEGF-C 表达的影响[J].时珍国医国药,2015,26(12):2895-2896.
- [59] 吴飞彪,邹练.前列腺汤对大鼠气滞血瘀型慢性前列腺炎的影响[J].中国性科学,2014,23(3):55-57.
- [60] 陈可冀,宋军.病证结合的临床研究是中西医结合研究的重要模式[J].继续医学教育,2007,8(19):12-15.
- [61] 李凤文,须惠仁,张问渠,等.肝郁气滞血瘀的临床和实验研究[J].中医杂志,1991,24(10):47-49.
- [62] D'Aquila P S, Peana A T, Carboni V, et al. Exploratory behaviour and grooming after repeated restraint and chronic mild stress; effect of desipramine [J]. Eur J Pharmacol, 2000, 399(1):43-47.
- [63] Roy M, David N, Cueva M, et al. A study of the involvement of melanin-concentrating hormone receptor 1 (MCHR1) in murine models of depression [J]. Biol Psychiatry, 2007, 61(2):174-180.
- [64] 赵海滨,刘子旺,张秀静.电针肝俞、期门对肝气郁结模型大鼠行为学的影响[J].广州中医药大学学报,2012,29(1):30-33.
- [65] Green A D, Barr A M, Galea L A. Role of estradiol

- withdrawal in ‘anhedonic’ sucrose consumption: a model of postpartum depression [J]. *Physiol Behav*, 2009, 97(2):259-265.
- [66] 包祖晓,赵国平,何贵平,等. 肝肾阳虚型抑郁症大鼠模型的建立与评价[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(1):42-45.
- [67] Kapusta D R, Jones S Y, Dibona G F. Opioids in the systemic hemodynamic and renal responses to stress in spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertension*, 1989, 13(6 Pt 2):808-816.
- [68] Mccubbin J A, Surwit R S, Williams R B, et al. Altered pituitary hormone response to naloxone in hypertension development. [J]. *Hypertension*, 1989, 14(6):636-644.
- [69] Millan M J, Przewlocki R, Jerlicz M, et al. Stress-induced release of brain and pituitary beta-endorphin; major role of endorphins in generation of hyperthermia, not analgesia[J]. *Brain Res*, 1981, 208(2):325-338.
- [70] 毛海燕,叶林,叶向荣. 肝郁证大鼠中枢神经递质变化的观察[J]. *福建中医药*, 2002, 33(2):17-18.
- [71] 唐照亮,宋小鸽,袁静,等. 艾灸对寒凝血瘀证大鼠活血化瘀作用的实验研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2000, 6(4):43-46.
- [72] 任路,李浩. 关于肝郁证动物模型研究现状及存在问题的思考[J]. *中医药学报*, 2006, 34(4):44-46.
- [73] Bousquet W F, Miya T S, Sanchez C. Modification of stress responses in histamine-depleted rats [J]. *Br J Pharmacol Chemother*, 1966, 27(1):177-184.
- [74] Kvetnansky R, Mikulaj L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress [J]. *Endocrinology*, 1970, 87(4):738-743.
- [75] 马如飞. 束缚应激加重挤压伤大鼠肠道损伤及内质网应激蛋白的表达变化[D]. 石家庄:河北医科大学, 2016.
- [76] 李莉,张晓静,刘威,等. 儿茶酚胺在束缚应激大鼠肺损伤中的作用[J]. *河北医科大学学报*, 2017, 38(5):501-505.
- [77] 刘楠. 束缚应激加重挤压伤大鼠孤束核损伤[D]. 石家庄:河北医科大学, 2015.
- [78] 闫珊珊,窦维华,董少龙,等. 血瘀证动物模型的制作及存在问题的探讨[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2004, 10(2):35-37.
- [79] 陈彦辛. 子宫内膜异位症证候分布研究与病证结合动物模型的研制[D]. 广州:广州中医药大学, 2013.
- [80] 邢建华,翟红莉. 中医证候动物模型研究近况[J]. *中国疗养医学*, 2007, 16(2):68-69.
- [81] 马小娜. 病证结合子宫内膜异位症大鼠模型的建立与评价[D]. 北京:北京中医药大学, 2011.
- [82] 吕爱平. 病证结合动物模型研究:从理论创新到技术挑战[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(1):6-7.
- [83] 韦薇,徐凤芹. 气滞血瘀证客观化研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2011, 9(5):608-609.
- [84] 钱小奇,张敏. 中医证诊断的特点、现状和展望[J]. *湖南中医药导报*, 2000, 6(12):5-6, 29.

[责任编辑 邹晓翠]