

综 述

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.03.022

中医血瘀证动物模型研究概况

颜琳琳, 周利红, 李 琦*

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海市浦东新区张衡路 528 号, 201203)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81273958, 81072955, 81303106); 国家中医药管理局“十二五”中医药重点学科资助项目; 上海市科学技术委员会科研计划资助项目 (12140902500, 13140902500, 13ZR1462200); 上海市教育委员会科研创新资助项目 (12ZZ118); 上海市卫生局重点资助项目 (2010019); 上海市中医药事业发展三年行动计划资助项目 (ZYSNXD-YJXY); 上海市中医临床重点实验室资助项目 (C10dz2220200)

摘要 血瘀证是临床常见的证候类型, 既可单独出现, 也可兼夹其他证型。随着对血瘀证临床与实验研究的不断开展和深入, 血瘀证动物模型已经成为中医药研究的重要工具。根据血瘀证的不同形成原因, 分别从外伤致瘀、情志致瘀、寒凝致瘀、热毒致瘀、痰浊致瘀、气虚致瘀、血虚致瘀、阴虚致瘀和阳虚致瘀等 9 个方面来综述血瘀证动物模型的研究概况, 分析血瘀证研究过程中存在的问题, 以期对中医血瘀证模型制备及证候研究提供借鉴。

关键词 血瘀证; 动物模型; 造模方法

中医证候动物模型是根据中医基本病因病机理论, 模拟人类疾病发生发展的某些特征, 通过一定物理、化学、生物等方法创造出的具有与人类疾病证候特点相似的实验动物模型。近年来有关中医血瘀证的研究方兴未艾, 从早期血瘀证的本质研究、活血化瘀方药作用机制研究, 到各种常见疾病包括恶性肿瘤、心脑血管疾病以及内分泌疾病等的血瘀证研究, 中医血瘀证研究取得了长足进展。而血瘀证动物模型作为中医血瘀证研究的重要工具, 也得到了极大发展和丰富。

中医学对于血瘀证的研究认识较早, 《黄帝内经》等经典中虽没有明确提出“血瘀证”这一概念, 但已有血瘀证的相关描述, 如《素问·至真要大论》中的“血脉凝泣”, 《素问·调经论》中的“血凝泣”, 《素问·调经论》中的“留血”, 《素问·五脏生成》中的“衄血”等。中医学认为, 瘀血的形成主要由于外伤、气虚、气滞、寒邪、热邪、阳虚、阴虚等造成血行失常而停滞于脉道之内; 或由离经之血未能消散吸收, 积存组织所致。现代医学对血瘀证的研究已经从血液流变学、

组织形态学以及生化检测等客观指标逐步深入到细胞、分子等微观水平, 如利用现代基因芯片技术分析比较血瘀状态下的基因表达和蛋白表达的变化, 进而探索血瘀证组织样本的相关基因, 选定血瘀证的基因或蛋白表达谱, 这对血瘀证的诊断、辨证分型、临床治疗都将起到巨大推进作用。此外, 临床多普勒血流超声、近红外热图仪、功能性核磁共振等新技术的应用更为血瘀证的量化研究提供了新的前景。我们梳理了近 20 年的研究文献, 根据血瘀证形成的不同原因及发生机理, 对中医血瘀证动物建模方法研究综述如下。

1 血瘀证动物模型制备方法

1.1 外伤血瘀证动物模型

《黄帝内经》曰“人有所堕坠, 恶血留内。”《古今医鉴》曰“大凡跌打扑损坠堕, 或刀斧所伤, 皮未破而内损者, 必有瘀血停积。”可见外力扭挫, 伤及脉络, 血逸脉外, 坏血积聚, 阻滞气血运行, 久而成瘀。华兴邦等^[1]根据外伤致瘀理论, 采用物理刺激方法, 运用杠杆压力器对家兔右后肢大腿内侧肌肉加压, 结果以外伤 1 天组的瘀血指征最为明显, 其伤侧大腿周径较对照组增大 29%, 局部肌肉肿胀明显, 肌温平均降低 0.62℃, 血流

* 通讯作者: lzwf@hotmail.com

缓慢呈断线状或粒状,全血黏度明显升高、血沉加快、血浆纤维蛋白原显著增多、凝血酶原时间缩短。结果表明,本模型所检测指标的改变与经典血瘀证的临床及实验指征相符,较好地再现了临床血瘀证的特点,是进行活血化瘀以及跌扑损伤急性血瘀证研究的理想工具。

1.2 情志失调血瘀证动物模型

《灵枢·五变》曰“怒则气上逆,胸中蓄积,气血逆,流血脉不行。”《血证论》曰“气结则血凝。”故情志失调,肝气疏泄失常,可致气机逆乱,气不行血,气血运行不畅,痹阻经脉,日久不通,壅而为瘀。苗兰等^[8]根据情志致瘀理论,将大鼠在稳定的人工光照条件下给予半高脂高糖饮食喂养,采用不可预知的慢性应激刺激方法进行干预,连续重复 6 周后,血清蛋白分析发现大鼠平均蛋白质点数升高,并且出现相关蛋白质的上调、下调以及缺失。王婷婷等^[9]也报道采用类似方法以声光电、夹尾、束缚、冰水浴联合刺激的方式成功建立气滞血瘀证动物模型。以上物理刺激的复合造模方法排除了药物作用的干扰,并且可重复性好,符合中医气滞血瘀的病机变化。

1.3 寒凝血瘀证动物模型

《黄帝内经》首先强调因寒致瘀,如《灵枢·痈疽》曰“寒邪客于经络之中则血泣,血泣则脉不通”;《素问·调经论》曰“寒独留,则血凝泣,凝则脉不通”。寒为阴邪,主收引,性凝滞,寒邪凝滞血脉,致使血脉挛缩,血液运行迟缓,渐致血凝为瘀。近年来根据因寒致瘀理论来建立血瘀证动物模型的研究较多,综合归纳大致可概括为局部冻伤法、全身冷冻法、风寒环境法、冰水浸泡法以及冰水浸泡加药物法等。其中以冰水浸泡加药物方法研究较多,如黄新武等^[10]通过皮下间隔注射盐酸肾上腺素 2 次,第 1 次注射后将大鼠浸入冰水中 5 min,再次注射 1 h 后心脏取血 4 ml,观察全血黏度、血浆黏度升高、血沉明显加快、红细胞压积增加,成功建立寒凝血瘀证动物模型。Liu 等^[11]、王学岭等^[12]也报道了采用间隔注射肾上腺素联合冰水冷冻的类似方法制成寒凝血瘀证动物模型。此外,王学江等^[13]采用单纯双侧后肢低温冷冻法观察小鼠微循环变化及局部征象,结果亦出现寒凝血瘀证的典型表现,但是效果稍差于冰水浸泡加药物法。

上述报道方法中采用冰水浸泡与肾上腺素共同作用,造成的寒凝血瘀证动物模型可形成全身性的瘀血表现。该造模方法在诸多的造模方法中相对简

便、易于掌握、实用性强、可重复性好,但我们试想若将冰水浸泡改为冷环境刺激,如置于低温冰箱中,可能更接近于人类的发病特点。

1.4 热毒血瘀证动物模型

中医学认为,热盛则气行壅遏,气机不畅,必然影响血液的正常运行,血必因之凝滞而形成瘀血。《读医随笔》曰“血犹舟也,津液者水也”;“津液被火灼竭,则血行瘀滞。”提示温热之邪最易伤津耗气,而人体之中津能化气,津液不足则气化无源,加之壮火食气,气不足则行血乏力,加重血行壅滞不畅,而致血瘀。卞慧敏等^[14]根据热毒致瘀理论,给家兔耳缘静脉注入金黄葡萄球菌液制成高黏高凝模型,48 h 后检测血液流变学指标,结果显示,家兔造模后血浆比黏度增高、血沉加快、纤维蛋白原明显升高。该模型设计者还采用地塞米松与大肠杆菌内毒素(LPS)联合应用制备血瘀证模型,结果表明,虽然家兔血液呈高凝状态且持续较长时间,但是其血液流变学变化不明显,具有一定局限性。许长照等^[15]给家兔耳缘静脉注射 LPS,结果显示,家兔呈现高热、眼球结膜及耳部血管充血等热毒症状表现,病理形态学检查发现,家兔各脏器组织有明显的瘀血现象及广泛的微血栓存在,符合热毒血瘀证的诊断标准。

1.5 痰浊血瘀证动物模型

痰浊与血瘀常常兼夹为患,痰浊性黏滞,随气升降,附丽脉络,与血胶结,形成痰瘀互阻,日久可致脉络气机不畅、津停不行、血运不利,而以上因素又能加重痰浊与血瘀互结状态,形成恶性循环。张红霞等^[16]根据痰浊致瘀理论给予大鼠高脂饮食 14 天后禁食不禁水 12 h,再给予肾上腺素,检测大鼠血胆固醇、甘油三酯、脂蛋白明显增加,血小板聚集率、血小板活化表达均上升,这一结果符合痰浊血瘀证脂代谢和血小板功能变化特点。赵玲等^[17]也采用类似方法给予大鼠高脂饲料,利用终点取齐法,发现在高脂饲料饲养第 8 周开始,大鼠全血黏度、血浆黏度均明显升高,总胆固醇和甘油三酯升高,红细胞变形指数呈显著性下降,血液呈“浓”、“黏”、“凝”、“聚”状态。

1.6 气虚血瘀证动物模型

《灵枢·经脉》曰“手少阴气绝,则脉不通,脉不通则血不流。”气主煦之,气虚则温煦、推动、固摄力量减弱,一方面致脉管无气充盈,血行无气推动,血流渐行渐缓,滞而为瘀;另一方面气失固摄,血不循经,溢于脉外,遂成血瘀之证,诚

如《医林改错》所言“元气既虚，必不能达于血管，血管无气，必停留而瘀”。庞树玲等^[13]根据气虚致瘀理论，通过控制大鼠食入量并强迫大鼠在冰水中游泳的方法来建模，结果观察到大鼠出现倦怠少动、活动无力、尾部发绀稍凉、皮下瘀斑等表现，同时检测到 T 细胞转换率相比对照组显著降低，而血浆比黏度升高。该造模方法采用复合因素刺激，同时注重实验室检测以及大鼠的证候表现，比较符合人类疾病发生的临床特点。此外，张红宇等^[13]报道单独采用强迫游泳法来制作大鼠气虚血瘀证模型也获得成功；而 Wang 等^[14]报道采用大鼠游泳疲劳法建立气虚血瘀证动物模型也具有一定借鉴意义；闫润红等^[15]采用青紫兰家兔作为模型动物，通过饥饿 + 心得安 + 高分子右旋糖酐的复合作用，亦成功造成气虚血瘀证动物模型。

1.7 血虚血瘀证动物模型

人体若因失血过多，或久病阴血虚耗，或脾胃功能失常，水谷精微不能化生血液，致使营血亏损，血枯不荣，脉道涩滞，血行不利，日久遂成瘀结。正如《景岳全书》中云“凡人之气血犹源泉也，盛则流畅，少则壅滞，故气血不虚不滞，虚则无有不滞者。”常复蓉等^[16]根据血虚致瘀理论，通过对家兔股动脉放血来制备血虚血瘀证模型，结果显示，在放血 72 h 时家兔血管收缩、血小板聚集和血瘀的发生程度较严重。该造模方法为单一因素下的急性血瘀证模型，但是临床所见血虚致瘀证型大多为久病耗损所致，故此法尚存一定局限性。

1.8 阴虚血瘀证动物模型

《灵枢·邪客》曰“营气者，泌其津液，注之于脉，化以为血。”指出营气与津液皆属阴，注于脉中从而化生血液。《医学衷中参西录》曰：“阴虚之甚者，其周身血脉津液，皆就黏稠。”说明若营气、阴津过度耗伤，血化无源，虚而生瘀；脉道失于濡润，无以载血，血行涩滞，聚而成瘀。袁静等^[17]根据阴虚致瘀的理论，采用连续 10 天对大鼠肌肉注射氢化考地松、第 11 天皮下注射肾上腺素的方法来制作阴虚血瘀证模型，结果显示，大鼠较用药前的体重显著增加，全血比黏度、血浆比黏度和红细胞压积均有明显增高。此造模方法采用两种激素干预，操作性强、成功率高，且造模大鼠的肾上腺重量与正常对照组差异无统计学意义，造模动物损伤小。

1.9 阳虚血瘀证动物模型

《素问·举痛论》曰“寒则气收”；“寒气客

于脉外则脉寒，脉寒则缩蜷，缩蜷则脉绌急，绌急则外引小络，故卒然而痛”。《医林改错》指出：“血受寒，则凝结成块。”外寒直中，或者阴寒内生，损伤阳气，机体失于温煦，血行迟缓，甚则凝滞不行，而成阳虚寒凝血瘀之证。郑小伟等^[18]根据阳虚致瘀理论，将大鼠置于低温冰箱的冷环境中持续受冻，待大鼠出现寒战、蜷缩少动、反应迟钝、呼吸微弱、被毛蓬松竖立无光泽、唇周发黑、耳色暗红、爪尾部紫暗、舌暗红、体温下降和心跳减慢等症状和体征时取出。结果大鼠耳廓微循环检测发现其血色暗红，血管清晰度下降，血流速度明显减慢，血流呈粒线或粒流状态，红细胞呈中重度聚集，并且服用附子、丹参可使以上症状得到改善。此外，还有研究者采用家兔以上述类似方法冷环境中持续 12 h 造模成功^[19]。这种造模方法强调在造模过程中要认真观察动物证候反应，把握时机，区分寒凝血瘀与阳虚血瘀证的程度，主观性较强。

2 存在的问题

目前的中医实验医学研究仍处于摸索阶段，血瘀证动物模型亦存在着以下问题亟待解决。

2.1 模拟中医的临床病因单一

根据中医“久病成瘀”的理论，“血瘀证”并不是单一原因造成的急性病证，其形成是多元病因所致的一个长期复杂的慢性过程。而我们通常所做的动物模型造模因素单一^[20]、时间较短、过程简单，并且大部分不能排除药物、手术及人为的干扰因素。如注射肾上腺素、注射大肠杆菌、动脉结扎等，所形成的动物模型很难揭示“血瘀证”的本质，亦难以反映临床“血瘀证”病因病机特点。

2.2 缺乏标准化、规范化的判定标准

成功的中医证候模型应该既符合血瘀证的临床诊断标准，又有较公认的病理生理指标，用活血化瘀代表方剂治疗可使血瘀症状得到改善或逆转。但是就目前而言，无论是中医证候属性的认定，还是模型的客观检测指标评价都在很大程度上受到客观和主观因素的限制，判定模糊，使实验结果难以做到标准化、规范化。

2.3 忽视了临床中医证候的表现

在目前血瘀证动物模型研究中，虽然现代医学的病理检测发挥了很大作用，但在造模过程中却过于侧重血液流变学或者血液循环等方面的改变，而忽视了中医临床最重要的证候表现。我们认为，血瘀证最典型的四大症即“疼痛”、“肿块”、“瘀

斑”、“出血”，在血瘀证中至少要有一证的表现，只注重实验室的检测指标而忽视临床表征的造模方法是够具备说服力的。

2.4 缺少病证结合的动物模型

病证结合是中西医结合的关键环节，既重视辨证又强调辨病，各取中西医之所长，对临床具有极大的指导意义，但目前制作的血瘀证动物模型却缺少理想的病证结合模型^[21]。一方面是因为血瘀证常以其他兼证的形式出现，另一方面也因为血瘀证常为复杂的虚实夹杂证型，并且在疾病的不同阶段常出现不同证型间的转换，所以很难找到明确的、稳定的病证结合动物模型。

3 发展方向及思考

综上，尽管在血瘀证动物模型的造模研究中还存在着很多问题，但是今后在中医理论指导下，在加强对中医病因、病机机制研究的基础上^[22]，从多方面、多病因、多指标、规范的客观量化等方面综合考虑研究血瘀证的本质，避免过多的干扰因素。在病的基础上贴近中医证的表现，建立病证结合的高效用价值动物模型。同时重视将中医理论、证候表现与现代医学的病理、生理检测有机结合，在研究中不断创新，在实践中不断提高，必将进一步推进血瘀证模型及证候的研究。

参考文献

- [1] 华兴邦, 庄康, 孙晓进, 等. 外伤血瘀证动物模型的研制[J]. 南京中医学院学报, 1992, 8(1): 16-18.
- [2] 苗兰, 潘映红, 任建勋, 等. 气滞血瘀证模型大鼠血清蛋白组学初步研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(2): 106-107.
- [3] 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): 1629-1632.
- [4] 黄新武, 李国春, 肖顺汉, 等. 聪灵胶囊对寒凝血瘀证大鼠血流变学及血栓的影响[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 187-188.
- [5] Liu L, Duan JA, Tang Y, et al. Taoren-Honghua herb pair and its main components promoting blood circulation through influencing on hemorheology, plasma coagulation and platelet aggregation[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139(2): 381-387.
- [6] 王学岭, 陆一竹, 陈晓旭, 等. 寒凝、热毒所致血瘀证模型大鼠血流变学观察及中药干预[J]. 天津中医药, 2010, 27(3): 243-244.
- [7] 王学江, 丰平. 寒凝血瘀证动物模型的实验观察[J]. 北京中医, 2000, 19(5): 44-45.

- [8] 卞慧敏, 杨进, 陈德宁, 等. 不同造模方法所致“热毒血瘀证”模型家兔血液流变学改变的比较研究[J]. 微循环技术杂志, 1996, 4(2): 99-101.
- [9] 许长照, 曹一鸣, 杨进, 等. “热毒血瘀证”动物模型的病理形态学基础[J]. 江苏中医, 1989, 10(2): 31-33.
- [10] 张红霞, 刘剑刚, 马鲁波, 等. 柴胡、赤芍与醋柴胡、杭白芍对大鼠高脂血症作用的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(2): 21-23.
- [11] 赵玲, 魏海峰, 张丽, 等. 中医痰浊血瘀证候的生物学基础研究[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(8): 680-683.
- [12] 庞树玲, 高金亮. 中年大鼠气虚血瘀证的模拟及其机理探讨[J]. 天津中医学院学报, 1997, 16(3): 28-30.
- [13] 张红宇, 高菊珍, 张晓华. 补阳还五汤对气虚血瘀证大鼠血液流变学的影响[J]. 云南中医学院学报, 2003, 3(3): 10-11.
- [14] Wang WR, Lin R, Zhang H, et al. The effects of Buyang-Huanwu Decoction on hemorheological disorders and energy metabolism in rats with coronary heart disease[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 137(1): 214-220.
- [15] 闫润红, 王世民, 同志芳. 不同剂量的补阳还五汤对“气虚血瘀”家兔血粘度的影响[J]. 中药药理与临床, 1999, 15(1): 7-9.
- [16] 常复蓉, 王殿俊, 刘小浩, 等. 血虚血瘀证动物模型的研制[J]. 南京中医学院学报, 1992, 8(1): 23-25.
- [17] 袁静, 吴华强, 张景湖, 等. 瘀虫对慢性血瘀型大鼠血液流变性和红细胞免疫功能的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2000, 19(1): 41-43.
- [18] 郑小伟, 卢良威, 傅鸿章. 阳虚血瘀证微循环障碍动物模型的实验研究[J]. 浙江中医药杂志, 1992, 27(11): 513-514.
- [19] 郑小伟, 李巍. 阳虚血瘀证凝血机制异常动物模型的实验研究[J]. 吉林中医药, 1993(3): 39-40.
- [20] 王江蓉, 张斌. 血瘀证动物模型研究概况[J]. 世界感染杂志, 2004, 4(1): 82-83.
- [21] 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.
- [22] 田金洲, 王永炎, 徐意, 等. 血瘀证动物模型的种类、评价与研究[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(6): 396-400.

(收稿日期: 2013-08-14; 修回日期: 2013-11-28)

编辑: 崔京艳

更正

本刊 2013 年第 24 期 2135 页论文题目“补中益气丸对大鼠的补益功效的实验研究”应为“补中益气丸对小鼠的补益功效的实验研究”，特此更正，并向作者及读者致歉。

本刊编辑部