

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 JX, Lin XY, 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.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.05.003

冠心病气虚血瘀证病证结合大鼠模型的建立研究

王瑾茜^{1,2}, 蔺晓源¹, 刘侃¹, 胡国恒^{2*}

(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 通过分析冠心病(coronary artery heart disease, CHD)气虚血瘀证病证结合大鼠病理、病因、复合模型的舌象表现及与前列环素(prostacyclin, PGI₂)、血栓素 A₂(thromboxane A₂, TXA₂)的关系, 探讨 CHD 气虚血瘀证病证结合大鼠模型的造模方法。**方法** 选用 32 只大鼠随机分为 4 组: K 组: 正常饮食饮水 (n=8); L 组: 正常饲养 21 d 后单纯结扎左冠状动脉前降支 (n=8); Y 组: 控食复合疲劳运动 21 d (n=8); F 组: 控食复合疲劳运动 21 d + 结扎左冠状动脉前降支 (n=8)。造模结束后, 使用 Photoshop 6.0 分析舌面 RGB 值并采用“RGB 数据分布范围表”评估各模型舌色; HE 染色检测丝状乳头上皮层、角化层、固有层高度及固有层微血管数量; 免疫组化分析 PGI₂、TXA₂ 的阳性表达率并计算 T/P 比值。**结果** (1) K 组大鼠舌质归属于“淡红舌”; L 组大鼠舌面 R 值较 K 组显著下降, 归属于“暗红舌”; Y 组大鼠舌面 R 值较 K 组显著下降, 归属于“淡白舌”; F 组大鼠舌面 R、G、B 值均显著低于 K 组和 L 组, 归属于“紫舌”; (2) L 组大鼠舌面丝状乳头各层高度、微血管数量与 K 组间无差异; Y 组与 K 组比较, 丝状乳头角化层高度显著降低; F 组丝状乳头上皮层、角化层高度均显著低于 K 组和 L 组, 微血管数量显著高于 K 组和 L 组; 各组丝状乳头固有层高度均无差异; (3) L 组、Y 组、F 组 PGI₂ 变化与 K 组比较均不明显; L 组 TXA₂ 水平与 T/P 比值显著高于 K 组; F 组 TXA₂ 水平与 T/P 比值显著高于 K 组于 L 组。**结论** CHD 气虚血瘀证舌色的 RGB 数值特征与丝状乳头上皮层、角化层高度降低, 固有层毛细血管数量增加有关, 其分子生物学机制可能与 TXA₂/PGI₂ 失衡有关; 采用病理病因复合模型更符合 CHD 气虚血瘀证病证结合模型特点。

【关键词】 冠心病; 气虚血瘀; 病证结合; 前列环素; 血栓素 A₂
【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 05-0602-08

Study on the establishment of a rat model of coronary heart disease with qi deficiency and blood stasis

WANG Jinxi^{1,2}, LIN Xiaoyuan¹, LIU Kan¹, HU Guoheng^{2*}

(1. First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China.
2. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208)
Corresponding author: HU Guoheng. E-mail: hugh9198@163.com

【Abstract】 Objective The purpose of this study was to explore a method of coronary heart disease model of qi-deficiency and blood-stasis syndrome type in rats by comparing the tongue appearance and its relationship with prostacyclin

【基金项目】 国家自然科学基金(81573941), 湖南中医药大学校级科研基金(2018XJJJ33), 湖南中医药大学中医学国内一流建设学科开放基金(2018ZYX45)。
Funded by National Natural Science Foundation of China (81573941), University Level Scientific Research Fund of Hunan University of Traditional Chinese Medicine (2018XJJJ33), Domestic First-class Construction Discipline Open Fund of Traditional Chinese Medicine of Hunan University of Traditional Chinese Medicine (2018ZYX45).
【作者简介】 王瑾茜(1991—), 女, 研究实习员, 在读博士研究生, 研究方向: 中医药防治心脑血管疾病研究。Email: 273067155@qq.com
【通信作者】 胡国恒(1961—), 男, 教授, 博士, 研究方向: 心脑血管疾病的中医药防治研究。Email: hugh9198@163.com

(PGI₂) and thromboxane A₂ (TXA₂) of three different model establishment method, which were respectively established by pathological factors, etiological factors and compound factors. **Methods** Thirty-two rats were randomly divided into four groups: Group K: Normal food and water ($n=8$); Group L: normal feeding twenty-one days and then ligation the left anterior descending coronary artery ($n=8$); Group Y: control diet combine with exhaustive swimming for twenty-one days ($n=8$); Group F: control diet combine with exhaustive swimming for twenty-one days and then ligation the left anterior descending coronary artery ($n=8$). At the end of modeling, Photoshop 6.0 was used to analyze the RGB value of the tongue surface and an RGB data distribution range table was used to evaluate the tongue color of each model. HE staining was used to determine the numbers of microvessels in the upper cortex, keratinized layer, lamina propria, and lamina propria. Immunohistochemistry was used to analyze the positive expression rate of PGI₂ and TXA₂, and calculate the T/P ratio. **Results** (1) The tongue quality in Group K was in the category of “light red tongue”. In Group L, the R value of the tongue surface was significantly lower than that in Group K, reflecting “dark red tongue”. In Group Y, the R value of the tongue surface was also significantly lower than that in Group K, reflecting “light white tongue”. In Group F, the R value, G value, and B value of the tongue surface were significantly lower than those in Groups K and L, reflecting “purple tongue”. (2) Compared with Group K, there were no differences in the height of each layer and the number of microvessels of the filiform papilla on the lingual surface in Group L. Compared with Group K, there was a significant decrease in the height of the keratosis layer of filiform papilla in Group Y. In Group F, there were significant differences in the height and number of microvessels between Group K and Group L, while there was no difference in the height of the lamina propria in each group. (3) Compared with that in Group K, there were no significant changes of PGI₂ in Groups L, Y, and F. The TXA₂ level and the ratio of T/P in Group L were significantly higher than those in Group K. The TXA₂ level and the ratio of T/P in Group F were significantly higher than those in Group K and Group L. **Conclusions** The RGB quantitative characteristics of tongue color of CHD with qi deficiency and blood stasis syndrome are related to the decrease of the height of the suprapapillary cortex and keratodermis, and the increase of the number of capillaries in the lamina propria. The molecular biological mechanism may be related to the imbalance of TXA₂/PGI₂. The pathological etiology complex model is more consistent with the characteristics of CHD with qi deficiency and blood stasis syndrome.

[Keywords] coronary artery heart disease; qi deficiency and blood stasis; disease syndrome combination; prostacyclin; thromboxane A₂

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

冠心病(coronary artery heart disease, CHD)是指因冠状动脉阻塞等原因导致心脏的血液灌注减少,从而引起心肌缺血缺氧、能量代谢失常的心血管疾病^[1-2]。世界卫生组织(WHO)最新报道,因心血管疾病引发的死亡率占全球死亡的人数 30%^[3],严重影响了人类的健康。CHD 在中医学归属“胸痹”“心痛”“真心痛”范畴,其中气虚血瘀证为胸痹最常见证型^[4]。自 2014 年刘建勋等^[5-6]提出“病证结合动物模型拟临床研究”概念后,CHD 气虚血瘀证动物模型的研究已获得一定的进展。本研究中,主要对比现有的 CHD 气虚血瘀证病理模型、病因模型以及病理病因复合模型,通过分析各模型舌色 RGB 值、舌尖丝状乳头各层高度和固有层微血管数量,并且分析前列环素(prostacyclin, PGI₂)、血栓素 A₂(thromboxane A₂, TXA₂) 在丝状乳头固有层表达情况,以期为 CHD 气虚血瘀证病证结合模型研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

16 周龄 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 32 只,体重(280 ± 20)g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司【SCXK(湘)2016-0003】。饲养于湖南中医药大学第一附属医院 SPF 级动物房【SYXK(湘)2015-0003】。实验动物饲养条件为:18 ~ 21℃,湿度保持 40% ~ 70%,环境空气控制为每分钟 10 次换气;保持每天 12 h 光照和 12 h 黑暗环境。本文涉及的实验动物,均经湖南中医药大学医学伦理委员会监管和批准实施(审批号:IACUC 2018659C)。

1.1.2 试剂与仪器

Tris(金克隆, T1503), 辣根酶(博尔西, P105524), DAB 显色液(Sigma, ab18799), PGI₂ 免疫组化测定试剂盒(赛默飞, E21390), TXA₂ 免疫组化测定试剂盒(赛默飞, B10710), Harris 苏木素(中

杉金桥,ZLI-9610),伊红(中杉金桥,ZLI-9660)。

Casmatch 标准色卡(X-Rite,美国),NikonZ50(尼康,日本),光学显微镜(尼康,Nikon Eclipse E100,日本),TP-2200B 型电子天平(湘仪,长沙),光学显微镜(Leica,德国),RM2125RTS 型手动轮转式切片机(Leica,德国),BOND-MAX 型全自动免疫组化染色机(Leica,德国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及实验干预

大鼠适应性喂养 1 周后开始正式实验,根据体质量按完全随机数字表法随机分为 4 组:空白组(K 组)、病理组(L 组)、病因组(Y 组)和复合因素组(F 组),每组 8 只。除 K 组大鼠正常饲养外,各模型组大鼠造模方式如下:

(1)Y 组^[7]以中医“劳则气耗”、“饥则气损”为病因,于正式实验第 1 天进行力竭游泳造模,每次以大鼠沉入水中 10 s,以头不能露出水平面为准。频率为每天 1 次,游泳后捞出实验大鼠,不予保温措施及擦拭水迹,关闭门窗任其暴露于空气中自然晾干。力竭游泳造模同时开始控制摄食量,大鼠每日摄入正常食量的 1/2 的饲料,连续 21 d。

(2)L 组^[8]于正式实验第 1 ~ 21 天正常饲养,正式实验第 22 天制备病理模型:左前胸去毛,顺肋间隙方向于胸骨左旁第 3 ~ 4 肋间切开皮肤长约 1 cm,切开心包,在左心耳前下方用 1 根零号医用缝合线结扎血管缝针,记录标准 II 导联心电图。以心电图 ST 段弓背向上太高的改变及左室前壁向外膨胀发绀、搏动减弱为结扎成功标志。术后腹腔注射青霉素每只 8 万 U × 3 d 以抗感染。

(3)F 组^[9-11]于正式实验第 1 天时进行力竭游泳造模,造模方式同 Y 组,第 22 天开始复合病理模型,造模方式同 L 组。

造模结束后,各组大鼠恢复正常饮食、作息,期间不采用任何造模手段,以第 25 天上午 8:00 为统一观察、取材时间点。

1.2.2 舌色 RGB 值

于第 25 天上午 8:00 将各组麻醉后,置于手术台。用手术镊轻拉暴露整个舌面,照明条件参照国际照明委员会推荐照明标准,拍照距离设定为 1500 ~ 2000 勒克斯,拍摄模式设定为手动挡,自动对焦,光圈 F8,关闭闪光灯,Casmatch 标准色卡与舌面平行^[12-13]。舌象色度分析采用 Photoshop 6.0 软件,

参照 Casmatch 标准色卡说明书,设定色阶,黑色为 L:22、a:0、b:0,灰色为 L:58、a:0、b:0,白色为 L:93、a:0、b:0。分析具体图片时,将黑、白、灰色阶值设置为图片标准色卡中的黑、白、灰色阶值。选择套圈工具,划定舌体范围(从舌尖到舌体中部),利用 Photoshop 6.0 软件中“直方图”工具,计算该区域的 R(红色)、G(绿色)、B(蓝色)分量值,以表 1 作为辨别舌质依据^[14]。

表 1 RGB 值数据分布范围表

Table 1 RGB value data distribution range			
组别 Groups	R	G	B
淡白舌 Pale tongue	162 ~ 237	99 ~ 162	70 ~ 152
淡红舌 Red tongue	176 ~ 250	102 ~ 167	63 ~ 178
暗红舌 Dark red tongue	132 ~ 204	52 ~ 113	26 ~ 117
正红舌 Positive red tongue	159 ~ 232	56 ~ 134	37 ~ 123
绛舌 Crimson tongue	166 ~ 239	58 ~ 112	48 ~ 113
紫舌 Purple tongue	105 ~ 230	59 ~ 167	84 ~ 205

1.2.3 HE 染色观察舌尖丝状乳头各层高度与固有层毛细血管数量

拍照后立即取舌尖组织,直径约 0.3 cm 左右,投入预先配好的 4%多聚甲醛中固定,以不同浓度的乙醇脱水,浸蜡,包埋,切成 5 μm 厚薄片脱蜡,转染,苏木精,伊红染液染色 5 min。在荧光显微镜高倍(×以树胶)视野下拍摄,并测算其角化层、固有层、上皮层高度,并统计固有层的毛细血管数量。具体实验操作参考文献^[15]。

1.2.4 免疫组化观察舌尖组织 TXA₂、PGI₂ 表达水平

石蜡切片脱蜡至水后,3% H₂O₂ 室温下孵育 10 min,封闭非特异性抗原,滴加新配制的一抗 TXA₂、PGI₂(1:200 稀释),4℃孵育过夜,洗涤后滴加辣根酶工作液,37℃恒温箱孵育 30 min,洗涤后 DAB 显色 3 min;复染,脱水,透明,封片。具体实验操作参考文献^[15]。

1.3 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 22.0 分析实验数据,根据不同的数据特点采用不同的检验法:计数资料采用 χ^2 检验;计量资料以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较,如果满足正态及方差齐性,采用成组 *t* 检验,不满足者采用秩和检验,*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 舌色 RGB 值

K 组舌质辨别归属“淡红舌”,与 K 组大鼠比较,L 组大鼠舌面 R 值下降且差异具有统计学意义($P < 0.05$),G 值下降、B 值上升但均不具有统计学意义,舌质辨别归属“暗红舌”;Y 组大鼠舌面 G、B 值上升但均不具有统计学意义,R 值下降且差异具有统计学意义($P < 0.01$),舌质辨别归属“淡白舌”;F 组大鼠舌面 R、G、B 值下降且差异均有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$),舌质辨别归属“紫舌”。与 L 组大鼠比较,Y 组大鼠舌面 R 值下降,但差异未见统计学意义;F 组大鼠舌面 R、G、B 值均下降,且差异具有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$)(见图 1)。

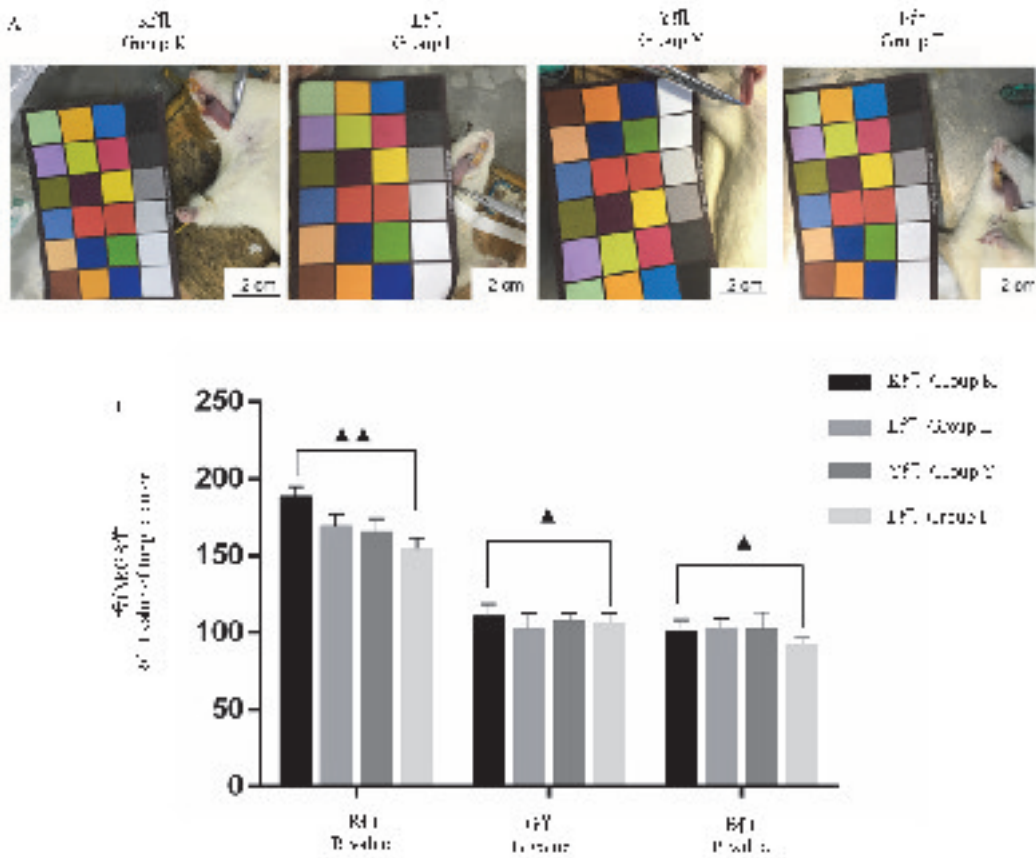
2.2 舌面丝状乳头各层高度、固有层毛细血管数量比较

与 K 组大鼠比较,L 组大鼠舌面丝状乳头的角

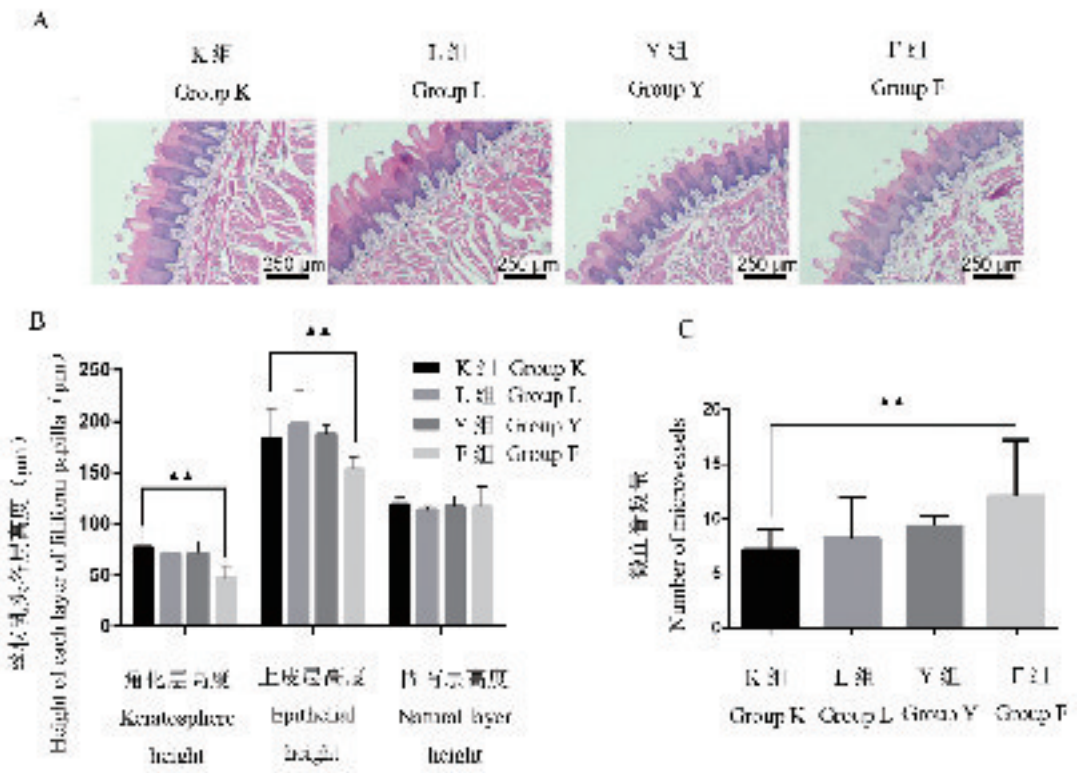
化层、固有层、上皮层高度降低,微血管数量增高,但差异均无统计学意义;Y 组大鼠舌面角化层高度降低且有统计学意义($P < 0.05$),上皮层高度降低,固有层高度升高、微血管数量增高但均不具备统计学意义;F 组大鼠舌面角化层、上皮层高度均降低、固有层微血管数量增高($P < 0.01$),固有层高度下降但不具备统计学意义。与 L 组大鼠比较,Y 组大鼠舌面丝状乳头的角化层、上皮层高度降低,固有层高度增高、微血管数量降低但差异均无统计学意义;F 组与 L 组比较,舌面丝状乳头的角化层、上皮层高度降低、固有层微血管数量增加($P < 0.01$),固有层高度差异不具备统计学意义(见图 2)。

2.3 免疫组化观察舌尖组织 TXA₂、PGI₂ 表达水平

与 K 组比较,L 组、Y 组、F 组 PGI₂ 水平均下降,TXA₂ 水平均上升,其中仅 L 组、F 组 TXA₂ 水平与 K 组比较差异具有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$);L 组、F 组 T/P 值均升高且与 K 组比较差异



注:A:各组大鼠舌色 RGB 测定图片;B:F 组与 K 组相比,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。
图 1 各组大鼠舌色 RGB 值测定
Note. A, Picture of RGB determination of tongue color of rats in each group. B, Compared with Group K,▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$.
Figure 1 Determination of RGB value of tongue color in each group of rats



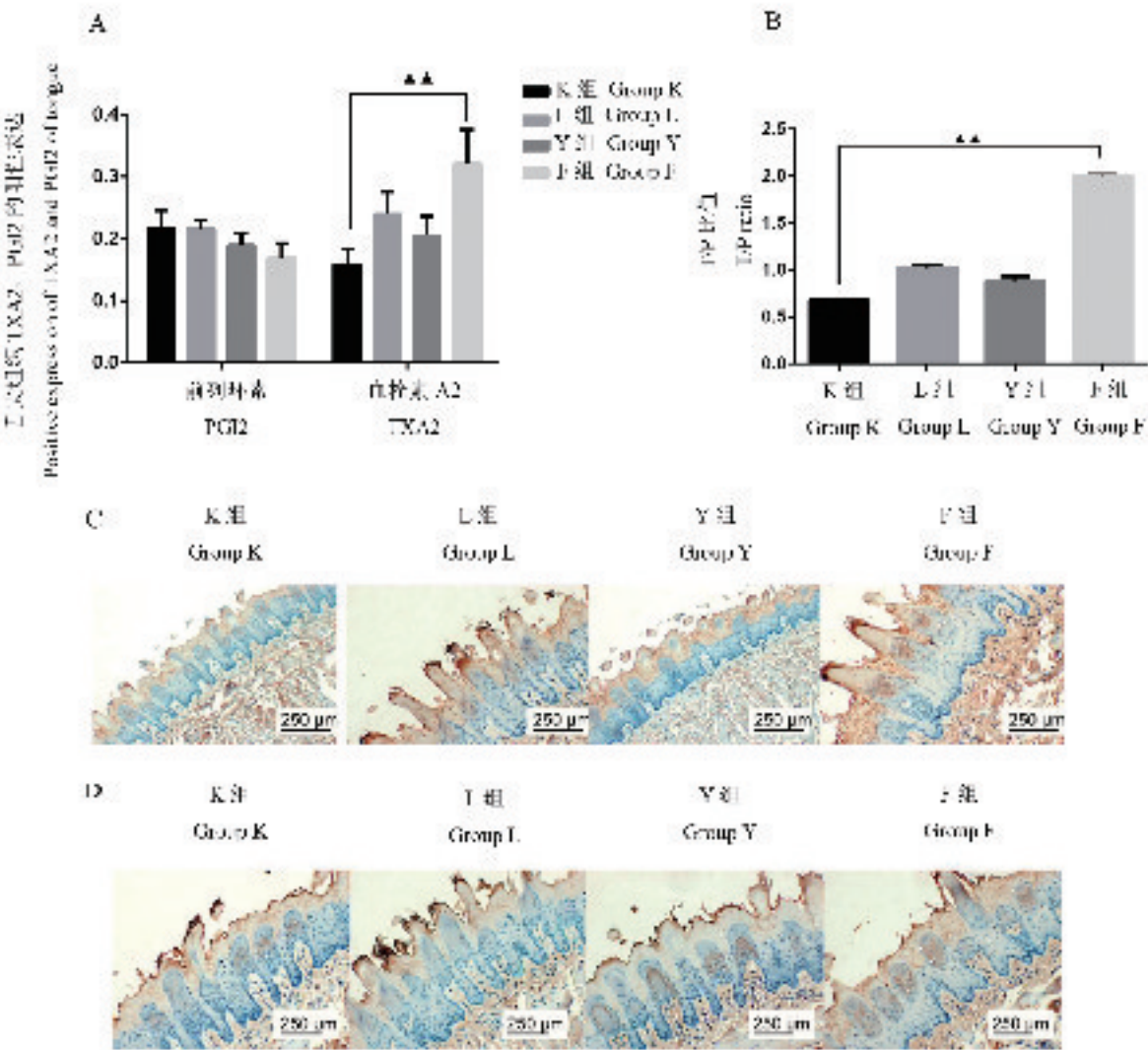
注:A:各组大鼠丝状乳头的组织学结构(HE染色,×400);B、C:F组与K组相比,▲▲ $P<0.01$ 。
图2 各组大鼠丝状乳头形态与各层高度、毛细血管数量
Note. A, Histological structure of filiform papilla in each group (HE staining,×400). B/C, Compared with Group K,▲▲ $P<0.01$.
Figure 2 Shape and height of each layer of rat's filamentous papilla and the number of capillaries in each group

具有统计学意义($P<0.01$, $P<0.05$)。与L组比较,Y组 PGI_2 、 TXA_2 和T/P值较低,但差异均无统计学意义;F组与L组比较 PGI_2 水平较低但差异不具有统计学意义($P>0.05$), TXA_2 、T/P比值较高且差异具有统计学意义($P<0.05$)(见图3)。

3 讨论

CHD在我国发病率呈逐年上升的趋势,目前主要药物治疗为口服阿司匹林和硝酸酯类药物以抗血小板聚集,但长期服用导致消化道出血症状及过敏反应等副作用^[16]。CHD气虚血瘀证一直是中医领域研究的热点,中医学认为气虚血瘀是CHD的主要病机,气虚则无力推动血液运行,血液凝滞成瘀,阻于心脉,则心前区憋闷疼痛^[17]。并认为舌与心关系密切,心开窍于舌,心功能正常则舌体红润柔软,形色正常^[18]。通过观察对比3种常见CHD气虚血瘀证病证结合大鼠单纯病理、病因及复合因素造模方式下舌色RGB值、舌尖丝状乳头病理形态学变化以及 TXA_2 、 PGI_2 水平表达,探讨各模型舌象的特点,为CHD气虚血瘀证动物模型研究提供实验依据。

RGB值是一种国际公认的比色标准,在统一的照明标准、拍照距离、相机参数下,运用Photoshop 6.0软件计算出红色(R)、绿色(G)、蓝色(B)值可以更加客观化、数字化比较各组模型的舌体颜色变化。翁维良教授运用“中医舌诊专家系统”将各类舌质舌苔记录出不同的RGB值,还证明了RGB值不仅与舌苔颜色有关,还与舌苔厚薄等变化明显相关^[19]。本研究发现与K组大鼠比较,L组大鼠舌面R值下降且差异具有统计学意义($P<0.05$);Y组大鼠舌面R值下降且差异具有统计学意义($P<0.01$);F组大鼠舌面R、G、B值下降且差异均有统计学意义($P<0.05$)。本研究运用伍喜良课题组“舌质RGB数据分布范围表”发现,L组大鼠舌色归属于“暗红舌”、Y组大鼠舌色归属于“淡白舌”,而F组大鼠舌色归属于“紫舌”。参照2002年版《中药、天然药物治疗冠心病心绞痛的临床研究指导原则》笔者发现,L组符合“CHD血瘀证之暗红舌”、Y组符合“CHD气虚证之淡白舌”,而仅F组舌象与“CHD气虚血瘀证之舌淡紫”相吻合。RGB值反映L组模型更倾向于CHD血瘀证舌色,Y组模型更倾



注:A、B、F组与K组比较,▲▲*P* < 0.01;C、D:TXA₂、PGI₂蛋白表达结果(免疫组化)。
图3 各组大鼠舌尖组织TXA₂、PGI₂蛋白表达(A)、T/P比值(B)和TXA₂、PGI₂表达光镜图(C、D)
Note. A/B, Group F compared with Group K, ▲▲*P* < 0.01. C/D, Protein expression results of TXA/PGI₂(HE staining).

Figure 3 Expression of TXA₂ and PGI₂ proteins in the tongue tip tissues of rats in each group (A), T/P ratio (B) and the light microscopy images of TXA₂ and PGI₂ expressions (C, D)

向于CHD气虚证舌色,病证结合模型相比其他两个模型组而言,更契合CHD气虚血瘀证舌色特征。

吴敏教授通过舌部热象图将舌划分为五个区域,分别对应中医藏象心(舌尖)、脾胃(舌中)、肝胆(舌左、右边)、肾(舌根)^[20]。有研究报道丝状乳头遍布于舌体前2/3,是形成舌苔的一个重要的因素^[21]。据此本研究推测CHD气虚血瘀舌象可能是由舌尖丝状乳头高度降低、微血管数量增高所致的外在现象。我们通过HE染色观察三种模型丝状乳头上皮层、角化层和固有层以及固有层的毛细血管数量。结果发现对比L组与K组,F组大鼠舌面丝

状乳头的角化层、上皮层高度降低、固有层微血管数量增加(*P* < 0.05),但各组丝状乳头固有层高度均无差异(*P* > 0.05)。提示舌尖丝状乳头的病理改变与舌尖RGB数值改变存在一定关系,RGB数值相应的微观病理学改变主要体现在丝状乳头上皮层尤其是角化层高度以及固有层微血管数量的变化上,与固有层关系不大。且CHD气虚血瘀证舌象特征与舌面丝状乳头的角化层、上皮层高度降低、固有层微血管数量增加有关。

PGI₂是花生四烯酸的一种衍生物,是血小板凝集作用的一种抑制剂。TXA₂是由血小板微粒体合

成并释放的一种具有强烈促进血管收缩和血小板聚集的生物活性物质^[22]。正常情况下血液中 TXA₂ 和 PGI₂ 含量保持相对平衡的状态,可以防止聚集效应,使血管扩张,保持血管通畅。研究表明中医学中“气虚”与现代医学中 PGI₂ 合成减少、“血瘀”与 TXA₂ 增加有关^[23-24]。在本实验中,我们对舌尖组织 PGI₂、TXA₂ 水平进行免疫组化半定量分析发现,与 K 组比较,3 种模型的舌尖丝状乳头固有层 PGI₂ 水平均下降、TXA₂ 水平均上升,仅 L 组和 F 组 TXA₂ 水平变化明显($P < 0.05$, $P < 0.01$),综合 RGB 值结果,推测血瘀证、气虚血瘀证形成与 TXA₂ 存在密切相关;L 组、Y 组、F 组 PGI₂ 变化均不大,其原因考虑机体存在代偿性增加现象,由此得出 T/P 比例比单一指标更可靠;L 组、F 组 T/P 比值均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),说明病证结合模型和疾病模型皆可导致机体血瘀证相关指标变化,而相较于单纯疾病模型,病证结合模型 T/P 比值变化更明显,说明气虚可在血瘀过程中引起血瘀严重化,进一步说明病理病因复合因素模型相较于单纯病理模型和病因模型而言更具气虚血瘀的特点。

综上所述,本研究通过对比病理、病因、病理病因复合 3 种常用的 CHD 气虚血瘀证动物模型造模方式舌象客观化研究。结果发现单纯病理模型和单纯病因造模方式无法达到 CHD 气虚血瘀证舌象特点,仅 F 组符合 CHD 气虚血瘀证“淡紫舌”的特点。此外,F 组乳头层、角化层、上皮层高度均下降、微血管数量均增高,T/P 比值均有明显改变,说明 CHD 气虚血瘀证舌色 RGB 值变化与丝状乳头上皮层、角化层高度降低,固有层毛细血管数量增加有关,其分子学机制可能与 TXA₂/PGI₂ 失调有关,但 TXA₂/PGI₂ 失调是否为 CHD 气虚血瘀的主导性分子生物学指标有待深入研究。

参 考 文 献(References)

[1] 张佩,王承龙,刘剑刚,等.缺血性心脏病心肌能量代谢障碍的研究进展[J].心脏杂志,2018,7(2):207-211.
Zhang P, Wang CL, Liu JG, et al. Research progress of myocardial energy metabolism disorder in ischemic heart disease [J]. J Heart, 2018, 7 (2): 207-211.

[2] 李竺宜,杨建飞.中医药对冠状动脉粥样硬化性心脏病的治疗进展[J].湖南中医杂志,2017,33(3):160-162.
Li JY, Yang JF. Progress in the treatment of coronary atherosclerotic heart disease with traditional Chinese medicine [J]. Hunan J Tradit Chin Med, 2017, 33 (3): 160-162.

[3] 高武霖,戴国华,史晓静,等.中医药干预 CHD 不稳定性心绞痛患者的队列研究[J].中国实验方剂学杂志,2018,23

(7): 228-234.

Gao WL, Dai GH, Shi XJ, et al. Cohort study of Chinese medicine intervention in CHD patients with unstable angina [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2018, 23(7): 228-234.

[4] 马俊,段兴林.国医大师段富津教授治疗胸痹心痛方剂配伍规律研究[J].湖南中医药大学学报,2019,39(2):225-229.
Ma J, Duan XL. Study on the compatibility of the prescription of Duan Fujin, a master of Chinese medicine, for the treatment of chest pain [J]. J Hunan Univ Tradit Chin Med, 2019, 39 (2): 225-229.

[5] 李莹.气滞血瘀证动物模型研究现状[J].中国实验方剂学杂志,2018,2(1):217-226.
Li Y. Research status of animal model of qi stagnation and blood stasis [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2018, 2 (1): 217-226.

[6] 黄越燕.病证结合动物模型的研究现状与思考[J].世界中西医结合杂志,2018,13(10):1459-1462.
Huang YY. Research status and thinking on animal model of disease syndrome combination [J]. World J Integr Tradit Chin West Med, 2018, 13 (10): 1459-1462.

[7] 郝婷婷.气虚血瘀证模型大鼠微循环状态评价研究[D].北京:中国中医科学院,2018.
Hao TT. Evaluation of microcirculation state in rats with qi deficiency and blood stasis syndrome [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2018.

[8] 周文武,林玲,陈军,等.冠脉结扎法制做大鼠心肌缺血模型[J].中国实验动物学报,2004,12(4):226-230.
Zhou WW, Lin L, Chen J, et al. Rat myocardial ischemia model by coronary ligation [J]. Chin J Lab Anim Sci Sin, 2004, 12 (4): 226-230.

[9] 郭文鹤,黄娜娜,张晓亮,等.动脉粥样硬化(气滞血瘀证)病证结合大鼠模型的研究[J].中国比较医学杂志,2019,29(9):32-41.
Guo WH, Huang NN, Zhang XL, et al. Study on the model of atherosclerosis (qi stagnation and blood stasis syndrome) combined with rats [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 32-41.

[10] 张世田,唐汉庆.大鼠冠心病心肌缺血模型制备方法的比较及改进浅析[J].中国比较医学杂志,2017,27(7):121-128.
Zhang ST, Tang HQ. Comparison and improvement of preparation methods of myocardial ischemia model of rat coronary heart disease [J]. Chin J Comp Med, 2017, 27(7): 121-128.

[11] 廖慧玲,尹思源,杨思进,等.从血液流变学看多因素复合制作气虚血瘀脑缺血动物模型[J].陕西中医,2007,10(6):750-751.
Liao HL, Yin SY, Yang SJ, et al. Making animal model of cerebral ischemia with qi deficiency and blood stasis from the perspective of hemorheology [J]. Shanxi Tradit Chin Med, 2007, 10(6): 750-751.

[12] 黄烁.冠心病气虚血瘀证病证结合大鼠模型的建立与评价

- [D]. 北京: 中国中医科学院, 2016.
- Huang S. Establishment and evaluation of rat model of qi deficiency and blood stasis syndrome of coronary heart disease [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2016.
- [13] 黄烁, 任建勋, 王少辰, 等. 冠心病气虚血瘀证大鼠模型的建立[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9): 1699-1705.
- Huang S, Ren JX, Wang SC, et al. Establishment of rat model of qi deficiency and blood stasis syndrome of coronary heart disease [J]. Chin J Tradit Chin Med, 2016, 41(9): 1699-1705.
- [14] 伍喜良. 中医舌象颜色特征的数字化分析及舌色自动识别系统的研究[D]. 天津: 天津中医学院, 2005.
- Wu XL. Digital analysis of color characteristics of tongue image in traditional Chinese medicine and research on automatic recognition system of tongue color [D]. Tianjin: Tianjin College Traditional Chinese Medical, 2005.
- [15] 王瑾茜, 胡国恒, 蔺晓源, 等. 益气活血方对气虚血瘀型冠心病模型大鼠的影响研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(5): 9-14.
- Wang JX, Hu GH, Lin XY, et al. Effect of supplementing qi and activating blood on model rats with coronary heart disease caused by qi deficiency and blood stasis [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2020, 40(5): 9-14.
- [16] Liu JX, Li XZ, Ma XB, et al. Cardio-protective effects of Corocalm on acute myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Chin J Integr Med, 2006, 12(3): 199-202.
- [17] 高毅超, 王泓午. 胸痹心痛(CHD)的中医研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(10): 183-185.
- Gao YC, Wang HW. Research progress of traditional Chinese medicine in chest pain [J]. Hunan J Tradit Chin Med, 2018, 34(10): 183-185.
- [18] 丁宏娟, 何建成. 舌诊的现代技术和方法研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(5): 1230-1232.
- Ding HJ, He JC. Research on modern technology and methods of tongue diagnosis [J]. Shi Zhen Guo Yi Guo Yao, 2010, 21(5): 1230-1232.
- [19] 翁维良, 黄世敬. 中医舌诊客观化研究[J]. 中国工程科学, 2001, 8(1): 78-82, 93.
- Weng VL, Huang SJ. Objectification of tongue diagnosis in traditional Chinese medicine [J]. Strategic Study CAE, 2001, 8(1): 78-82, 93.
- [20] 吴敏, 宓越群, 倪建俐, 等. 700 名健康学龄儿童红外热像谱特征及中医望诊关联研究[J]. 上海中医药杂志, 2012, 9(3): 34-36.
- Wu M, Mi YQ, Ni JL, et al. Study on the infrared thermogram characteristics of 700 healthy school-age children and the correlation between TCM observation and diagnosis [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2012, 9(3): 34-36.
- [21] 阙翼. CHD 稳定期患者舌象特征及其客观测量比较研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2018.
- Que Y. A comparative study of tongue characteristics and objective measurement in patients with stable CHD [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2018.
- [22] 王硕, 张晓天, 胡亚, 等. 血栓心脉宁片对急性血瘀大鼠血浆 TXA₂ 及 PGI₂ 含量的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(6): 712-713.
- Wang S, Zhang XT, Hu Y, et al. The effect of xueshunxinying tablet on the content of TXA₂ and PGI₂ in the plasma of rats with acute blood stasis [J]. Chin J Integr Med Cardio-/Cerebrovas Dis, 2012, 10(6): 712-713.
- [23] 陈春, 杨天伦. TXA₂/PGI₂ 与心血管疾病[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(11): 2166-2168, 2172.
- Chen C, Yang TL. TXA₂/PGI₂ and cardiovascular disease [J]. Progr Modern Biomed, 2008, 8(11): 2166-2168, 2172.
- [24] 赖世隆, 王奇, 丘梅清, 等. 血瘀证、气虚血瘀证患者血浆 TXA₂、PGI₂ 水平与微循环观察及其相关性分析[J]. 中国医学学报, 1990, 9(6): 14-17, 59.
- Lai SL, Wang Q, Qiu MQ, et al. Observation and correlation analysis of plasma TXA₂ and PGI₂ levels with microcirculation in patients with blood stasis, qi deficiency and blood stasis [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 1990, 9(6): 14-17, 59.

[收稿日期] 2020-04-29