

■ 方肇勤 主编

大鼠/小鼠 辨证论治实验方法学



Dashu/Xiaoshu
Bianzhenglunzhi Shiyan Fangfaxue

第 10 卷 第 1 期

南证论出买股行法第



第 10 卷 第 1 期

南证论出买股行法第

大鼠/小鼠辨证论治 实验方法学

方肇勤 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书是常用实验大鼠/小鼠的标准化诊法和辨证的方法学工具书。全书主要包含以下几个方面:① 绪论:介绍动物实验在中医药辨证论治的研究与发展中的重要地位,大鼠/小鼠证候模型的创建、发展和存在的问题,大鼠/小鼠诊法和辨证论治方法学的创建和发展,以及存在的问题和发展趋势。② 大鼠/小鼠的证候与人类证候:其中涉及大鼠/小鼠的症状、体征、辨证结论等与人类的比较,中医辨证的基本方法和理论如何运用于实验大鼠/小鼠辨证。③ 大鼠/小鼠的诊法和辨证:分别介绍大鼠/小鼠各种诊法的信息与采集方法,辨证论治及计量化疗效评价方法。④ 大鼠/小鼠常见疾病的造模与辨证论治:包括我国一些常见病、多发病的造模与同病异证/异病同证的表现。⑤ 实验大鼠/小鼠的望诊图谱:包含常用实验大鼠/小鼠的正常望诊图谱、常见疾病的望诊图谱、常见证候的望诊图谱。

本书是上海中医药大学中医基础理论重点学科继2006年出版《辨证论治实验方法学——实验小鼠诊法和辨证》后,又一本常用实验动物大鼠/小鼠标准化诊法和辨证方法学工具书。该著与前一本专著相比,集中反映了这些年学科在该领域方法学研究的进展和突破,解决和回答了该领域一些关键的学术和技术问题,使该方法学更为系统、完整和实用。

本书既可作为高等中医院校各中医专业教材,又可供各类从事中医专业和涉及中医药研究的教师、研究人员和医务人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

大鼠/小鼠辨证论治实验方法学/方肇勤主编. —北京:
科学出版社,2009

ISBN 978-7-03-025577-8

I. 大… II. 方… III. 医药学:实验动物学 IV. R-332

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第163907号

责任编辑:潘志坚 钱 鑫 / 责任校对:刘珊珊
责任印制:刘 学 / 封面设计:殷 靓

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

http://www.sciencep.com

江苏省句容市排印厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009年10月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2009年10月第一次印刷 印张: 17 1/4

印数: 1—2 200 字数: 336 000

定价: 50.00 元

前 言

辨证论治是中医学的特色和优势,其特点是依据患者普遍存在“同病异证”和“异病同证”的现象,采取“同病异治”和“异病同治”,往往能取得良好的疗效。那么,“同病异证”和“异病同证”的物质基础是什么?与疾病的发生、发展、转归的关系如何?“同病异治”和“异病同治”取效的机制是什么?如何通过实验方法去比较、筛选、评价、优化和提高辨证论治的方法和措施,提高其疗效?回答这些学术问题,需要开展大量的动物实验,而其中使用最为广泛的实验动物是大鼠和小鼠。

我们以往的研究发现,大鼠/小鼠与人类近似,普遍存在着“同病异证”和“异病同证”,不加辨证的治疗,疗效往往受到限制。为此,我们开展了长期的探索性研究,逐步建立并完善了大鼠/小鼠标准化诊法和辨证论治方法与技术。希望本书所介绍的方法学有助于读者在辨证论治实验中使用,并促进中医药辨证论治的学术研究和发

展。本书既可作为中医药辨证论治方法学专著,又可作为高等中医院校有关专业的教材,以及供各类从事中医专业和涉及中医药研究的教师、研究人员和医务人员参考。

为了便于读者了解和掌握该技术,本书分为五个相互关联的章节。第一章“绪论”,介绍了动物实验在中医药辨证论治的研究与发展中的重要地位,大鼠/小鼠证候模型的创建、发展和存在的问题,以及大鼠/小鼠诊法和辨证论治方法学的创建和发展,存在的问题和发展趋势。第二章“大鼠/小鼠的证候与人类证候”,涉及大鼠/小鼠的症状、体征、辨证结论等与人类的比较,中医辨证的基本方法和理论,以及大鼠/小鼠辨证的思路与方法。第三章“大鼠/小鼠的诊法和辨证”,分别介绍了大鼠/小鼠普通诊法的信息及采集、计量化诊法的信息及采集、四诊信息采集的注意事项,大鼠/小鼠普通辨证的方法和标准、计量化辨证的方

法和标准,以及大鼠/小鼠个体化辨证论治及计量化疗效评价方法。第四章“大鼠/小鼠常见疾病的造模与辨证论治”,包括不同肝癌、肺癌、胃癌、不同高血压模型、不同糖尿病模型、不同高脂血症模型、肥胖症模型、不同胃溃疡模型、围绝经期综合征模型等大鼠/小鼠的造模方法,及其同病异证和异病同证的特征;以及自发性高血压大鼠和自发性糖尿病大鼠个体化辨证论治与疗效评价。第五章“实验大鼠/小鼠的望诊图谱”,包含我国常用的实验大鼠/小鼠的望诊图谱、常见疾病大鼠/小鼠的望诊图谱,以及大鼠/小鼠常见证候的望诊图谱。

在本著付梓之际,深深感谢我们整个研究团队长期以来勤奋忘我、卓有成效的探索与研究,感谢上海市教委、科委和卫生局给予研究经费的资助。大鼠/小鼠辨证论治实验方法学是一个新兴的领域,我们殷切地期待同道的积极参与和批评指正。

目 录

前言

| | |
|------------------------------------|-----|
| 第一章 绪论 | 001 |
| 第一节 动物实验在中医辨证论治中的地位 | 002 |
| 第二节 大鼠/小鼠证候模型的创建和发展 | 004 |
| 第三节 大鼠/小鼠辨证论治方法学的创建和发展 | 006 |
| 第四节 实验动物辨证论治中存在的问题和展望 | 023 |
| 参考文献 | 025 |
| 第二章 大鼠/小鼠的证候与人类证候 | 029 |
| 第一节 中医辨证的理论和基本方法 | 029 |
| 第二节 大鼠/小鼠的证候与人类证候的比较 | 040 |
| 第三节 大鼠/小鼠的辨证思路与方法 | 052 |
| 参考文献 | 055 |
| 第三章 大鼠/小鼠的诊法和辨证 | 056 |
| 第一节 大鼠/小鼠普通诊法的信息及采集 | 056 |
| 第二节 大鼠/小鼠计量化诊法的信息及采集 | 064 |
| 第三节 大鼠/小鼠的辨证和疗效评价 | 086 |
| 第四章 大鼠/小鼠常见疾病的造模与辨证论治 | 115 |
| 第一节 不同肝癌造模荷瘤小鼠 | 115 |
| 第二节 Lewis 肺癌造模荷瘤小鼠 | 132 |
| 第三节 SGC-7901 胃癌造模荷瘤裸鼠 | 140 |
| 第四节 不同高血压造模大鼠 | 147 |

| | | |
|------------|--------------------------|------------|
| 第五节 | 自发性高血压大鼠····· | 154 |
| 第六节 | 不同糖尿病造模大鼠····· | 165 |
| 第七节 | 自发性糖尿病大鼠····· | 173 |
| 第八节 | 不同高脂血症造模大鼠····· | 182 |
| 第九节 | 肥胖症造模大鼠····· | 190 |
| 第十节 | 不同胃溃疡造模大鼠/小鼠····· | 197 |
| 第十一节 | 围绝经期综合征造模小鼠····· | 220 |
| | 参考文献····· | 228 |
| 第五章 | 实验大鼠/小鼠的望诊图谱····· | 232 |
| 第一节 | 正常实验大鼠/小鼠的望诊图谱····· | 232 |
| 第二节 | 实验大鼠/小鼠常见疾病的望诊图谱····· | 235 |
| 第三节 | 大鼠/小鼠常见证候的望诊图谱····· | 244 |

第一章 绪 论

给大鼠/小鼠辨证,行不行?

十年前,当我们提出该假说并开始探索研究时,多数学者感到很意外,持怀疑和观望的态度。时至今日,仍有一些学者不了解、好奇,甚至质疑。

我们在给中医院校的本科生们讲授《实验中医》时,在课堂上举了一个例子:

某雄性昆明种小鼠,右腋下见有肿瘤,消瘦,少动,爪色淡且消瘦,爪和尾偏凉,体温略低(在动物实验中很容易观察到这些表现)。请学生们试对其进行辨证。

学生们见状跃跃欲试:有的辨证为阴虚,理由是见有消瘦体征,有的还补充说,小鼠的爪也消瘦;有的辨证为气虚,依据是小鼠出现少动、爪色淡等体征;有的辨证为阳虚,依据是小鼠的爪和尾偏凉、体温略低。经过充分而热烈地讨论和反复地酝酿,学生们达成这样的共识:即该小鼠存在阴虚、阳虚和气虚的复合证,并做出了这样的辨证结论。

这样的辨证结论对不对呢?答案是对的,只是还遗漏了肿瘤“痰瘀热毒证”这样重要的辨证结论,这也是该案例可以得出的辨证结论。

类似的,如果临床上患者出现某部位肿瘤,畏寒、精神不振、消瘦,舌、面部和手掌(小鼠为爪)淡白、消瘦。依据消瘦(类似的可见脉细、舌体瘦小、苔剥等)可以辨证为阴虚;面色淡白、畏寒、少动(类似的可见乏力)可辨证为气虚、阳虚;肿瘤以其肿块固定不移、局部疼痛不适、发展快、预后差,往往辨证为热毒、痰凝、血瘀。

这个例子很好地说明,在初步掌握了中医基础理论和诊断方法后,依据中医理论和方药,是可以给大鼠/小鼠辨证的。

当然,以上还仅仅是初步模拟中医临床的辨证,具体开展大鼠/小鼠的四诊和辨证,还涉及许许多多环节、技术和理论,在本书中我们将逐一展开。

近五十年来,我国开展了大量对动物进行辨证论治的实验研究,并取得了丰硕的成果。不但充实了中医药的学术内容,推动了中医药的继承与发展,更促进了中医药的国际化。期间,也形成了一些学术分歧和疑惑,比较集中的有以下三点:

1. 以大鼠/小鼠为主的动物实验,在辨证论治研究和发展中的地位 and 重要性如何?
2. 如何模拟中医临床实践,开展大鼠/小鼠辨证论治的实验研究?
3. 所建立的大鼠/小鼠四诊和辨证方法是否符合中医理论与实践,可不可靠?

经过这些年我国中医药实验研究和探索的积累,我们得以梳理出一些比较清晰的脉络,著于书中供大家参考。

第一节 动物实验在中医辨证论治中的地位

一、当代中医药研究具有广泛的社会需求和学术需求

中医药是我国医学的特色和优势,自古以来,中医学对中华民族的繁衍昌盛作出了巨大的贡献。随着社会的发展和进步,数千年来困扰人类的传染病在全球大部分地区得到了有效的控制,因营养不良、医护不当所引起的病证也极大地减少了。然而,人类的常见疾病谱、证候谱发生了改变,目前仍有许多难治病、不治病严重困扰着人类;而营养过剩或营养结构不合理、抗生素等药物滥用所导致的毒不良反应、工作和生活压力等也引发了许多新的疾病和证候等等,构成了大量新的医疗需求。如何探索这些疾病和证候发病机制,提高中医学的诊断水平、优化辨证论治的方法和疗效,同时中医药继承与创新的自身学术发展,以及所面对国际医学日益严峻的竞争环境等,这些都对新时期中医药的实验研究与发展提出了愈来愈迫切的要求。

二、辨证论治是中医药研发的重点领域

与西医学相比,辨证论治是中医学的特色和优势。中医学辨证论治的学术肇端始于2000年前,作为中医理论体系的宝藏之一,经过历代的发展,积累起了丰富的经验,其特点是针对疾病、证候、症状三位一体的灵活的个体化治疗。当代中医药临床试验和观察表明,辨证论治对疾病的治疗优势突出表现在对患者证候的改善,有效地减轻患者的痛苦和忧虑,直接和间接地对疾病起到积极的治疗作用。对于一些常见病、难治病的防治,如恶性肿瘤等,中医药或中西医结合的辨证论治有利于提高疗效,在国际上得到认可,被誉为“中国模式”。辨证论治的临床和实验成果,丰富了人类对疾病及其治疗理论和方法的认识;一些中药及其有效成分的疗效已经被大量的中药药理实验所证实。

作为国际医学研究和发展客观形成的分工,以及从学科优势和特色出发,当代中医药的研究和发展很自然地把辨证论治作为重点。几十年来,从中央到地方,从政府到企业,无不对辨证论治的研究和发展投入了大量的经费,中医药界及相关学术界倾注了大量的精力和投入,并取得积极的进展。随着研究的深入,使得辨证论治研究中的一些关键问题、学术热点和发展前沿逐渐明朗。

三、辨证论治所面临的系列学术问题

1) 如何准确、客观、计量化地采集患者的证候,实现辨证的客观化、标准化和计量化?这对于辨证论治方法和技术的普及、辨证论治的国际化,乃至辨证论治的深入研究与发展至关重要。

2) 在四诊信息中,各自的辨证意义如何,效价如何? 哪些四诊信息重要、哪些次要? 这样的研究和筛选,对于临证和基础研究抓住主要四诊信息十分必要。

3) 哪些重要的四诊信息需要(或值得)加强挖掘的力度和加大投入,哪些四诊信息需要细化和发展? 这样可望延伸人类四诊的范围。例如引入显微放大、标准图像采集和信息挖掘,实验室辅助诊断和物理诊断检测等方法采集四诊信息。

4) 证候形成与发展的复杂物质基础是什么? 与疾病的发生、发展、转归的关系是什么? 相互间的作用、影响机制如何?

5) 辨证论治对不同疾病的疗效如何,对不同证候的疗效如何? 如何计量化评价其疗效? 期间排除医师的暗示和安慰剂的作用十分必要。对此,临床试验已设计出一系列方法,但投入大、耗时长,甚至受到医学伦理和实际操作的限制。例如针灸治疗就难以做到双盲,而动物实验却具有显著的优势。

6) 辨证论治为什么有效,其起效的复杂机制是什么?

7) 与辨证论治密切相关的中药、中药复方、中药有效成分等的药性如何? 采用什么方法去描述、确定和评价药性? 这对于当代中药学科自身发展、中药新药的研发,以及中医临床辨证论治遣方用药的应用均十分必要。

8) 通过什么途径去丰富和发展辨证论治的治疗手段和措施,提高辨证论治的疗效? 仅仅通过临床摸索、研究和挖掘古典文献够不够?

9) 目前中医临床辨证论治的局限性是什么,存在哪些问题,如何发展和突破等。

四、辨证论治的研究与发展有赖于大量动物实验

上述这些学术问题的解答需要开展大量的实验研究和探索。由于受到医学伦理的限制,很多研究无法直接以人体作为实验对象,去检测人体的组织。因此必须开展大量的动物实验、临床前期的动物实验。

动物实验是近代生命科学实验发展的重要方法,生命科学领域的许多重大发现和突破均是建立在动物实验之上的,当代医学各领域中许多重要的进步也都是以动物实验研究与探索为基础的。由于不同生物从共同祖先演化而来,具有生物进化的保守性,其结构和功能与人类近似,甚至完全一样。例如:一些对生命活动具有重要功能的基因在进化上往往是保守的,这些基因的结构和功能,在低等生物和高等生物中是相似的。由此所形成的蛋白组、代谢组,组织器官,以致外在的生物表现,对自然和疾病的反应,以及许多病理改变等等,具有相似性、一致性。因此,可以利用一些技术上容易获得和操作的生物来研究高等生物的问题,包括中医证候和辨证论治的问题。

在生物医学研究中,大鼠/小鼠是使用最普遍的实验动物。这是因为大鼠/小鼠繁殖快、价廉、容易操作,而且作为哺乳类动物,从生物学角度看,与人类有许多相似的地方。据检索,国内外涉及动物实验的学术文献中,约90%是采用大鼠/小

鼠作为实验对象的,在中医药实验研究中,大鼠/小鼠使用得也最为频繁。于是就形成了这样的基本问题——如何开展大鼠/小鼠的辨证论治实验研究?如何创建和发展大鼠/小鼠的辨证论治方法学?

第二节 大鼠/小鼠证候模型的创建和发展

该领域最早的突破来自实验动物的证候造模。其思路是,借鉴西医疾病造模的经验,模拟中医病证和病因,制作证候的动物模型、病证结合的动物模型。

一、大鼠/小鼠证候模型的创建和发展

20世纪中期,基于肾上腺皮质功能衰退,和肾上腺皮质激素临床应用及其所产生的不良反应,借鉴西医疾病模型建立的方法和思路,邝安堃等尝试采用肾上腺皮质激素建立肾虚证小鼠模型,开创了中医证候实验动物造模的先河。到了20世纪70~80年代,证候研究进入了蓬勃发展的时期:肾虚证、脾虚证、血瘀证等研究相继启动;证候动物模型的探索与建立步伐加快;不同证候动物模型报道日渐增多,涉及的病种也越来越多;五脏诸证的研究全面铺开;一些国际上最新发展的实验技术和理论被引入;潜在的虚证被观察到;实验研究成果尝试向临床推广,推动了中医药辨证论治的实验研究和普及。

二、大鼠/小鼠证候造模存在的问题

1. 证候造模存在的问题

1) 一些证候造模方法不规范、不稳定,造模因素的选择和实施强度不易控制;一些造模方法难度大、周期长、难以重复。

2) 一些学者的研究发现,直接引用疾病造模的方法建立证候模型,似难符合中医发病学理论。

3) 一些模型的建立片面模拟古典中医病因理论,或脱离疾病的证候造模,不符合当代临床的实际和需求。

对以上的研究,学术界出现了两种截然相反的观点:一种观点是充分肯定,十分依赖证候造模,甚至担心不采纳证候造模,将难以体现中医认识疾病的病因病机;另一种观点却表示怀疑、否定,认为大鼠/小鼠不能用来研究中医证候,理由是证候动物模型存在许多不确定性,而且与临床实际有较大距离,不能指导临床实践;甚至认为中医证候辨证标准及物质基础在临床都尚难开展,何谈动物?认为直接针对患者的研究更有说服力。显然后者对动物实验的期望不当,也不了解临床试验的方法理论和临床开展实验的种种不便和限制。

2. 疾病模型基础上叠加证候造模存在的问题

当代中医临床已普遍采纳国际通行的疾病概念,就诊的患者大多疾病诊断明

确,并以此评价辨证论治的疗效。如何面对这样的实际,开展有关疾病的同病异证和异病同证的研究?在动物实验方面,疾病模型在国内外医学研究中已普遍采用,如何在此基础上开展证候和辨证论治的研究?借鉴证候造模的思路,学术界提出了病证结合模型的概念,即在疾病造模的基础上叠加证候造模,期望通过这种方式建立能够较为准确反应中医病和证的病理特征、适合中药药理学研究和药效评价等中药研发所需的病证结合的动物模型。

通过多年的探索研究,病证结合模型存在的问题突出表现在:①除证候造模本身属性不确定外,一些严重的疾病模型,实验动物往往难以承受再次的证候造模。②临床上患者的同病异证和异病同证大多不是“造”出来的,更多的是与遗传和体质有关、与疾病的发展和演变有关,部分与治疗不当和延误有关。

3. 缺少准确而有效的鉴定证候模型的方法

证候造模以及病证结合造模的最大问题在于,如何鉴定所造证候模型的准确性,即所建立的证候模型是不是研究者所期望的证候。例如:计划建立气虚证模型,选择了一些方法造模,结果所建立的模型是不是气虚证,有没有气虚?是单纯的气虚,还是兼有其他证候?所建立证候模型的真实性、与临床的一致性如何界定?以往主要通过以下途径来判断:

(1) 实验室指标检测

依据临床一些证候患者存在某些实验室指标的改变,如肾虚证患者不同程度存在激素水平的降低,检测大鼠/小鼠对应的实验室指标。该思路和方法存在以下问题:

1) 证候是体内多系统、组织、细胞、分子等不同层次生物学变化的综合反映。由于以往缺少大鼠/小鼠四诊方法,缺少证候与实验室检测指标综合比较、分析,一直未能建立起证候与实验室指标一一对应的关系,以致一些实验室检测指标暴露出针对不同证候特异性不强,辨证意义不明确等问题。实验室指标检测尚不能替代四诊。

2) 实验室检测,如验血和组织活检等,对实验动物叠加了一个干预刺激,会产生心理和组织的创伤,甚至会类似于针灸、放血等,起到一定的治疗作用。这样的额外刺激,是应该避免的。

3) 实验室检测往往要求处死动物,如此则难以动态观察和跟踪实验动物证候自然的发生和演变,也难以动态评估辨证论治的疗效。

4) 实验室检测成本高、检测周期长,不利于药理等实验研究高效、批量的要求。

(2) 治疗反证

依据“寒者热之、热者寒之”等中医理论,采用与造模证候相对应的治法干预。例如:建立气虚证模型,采用补气药治疗,一旦治疗取效,则得出证候造模正确的结论。操作过程中,学术界普遍观察到其局限性:首先,对应的治疗往往难以取得预期的疗效;其次,一些不相干的治疗,往往却出现了疗效,分析起来十分困难。

(3) 模拟临床四诊

以往的实验研究业已涉及一些实验动物的外在表现,但多数零星散落、缺乏比较和筛选、不成系统,且缺少标准化、客观化的采集与分析方法。有些报道的方法还十分复杂、操作困难、检测费时,难普及、不实用。

(4) 综合以上三种方法

这是多数学者比较容易接受的方法。但是操作起来有难度,当结论不一致时,又难以取舍。

总之,由于缺乏大鼠/小鼠基于四诊的辨证及评价,一些证候造模的准确性、可靠性还有待验证,需要再辨证、再评价。中医辨证论治讲究望、闻、问、切,四诊合参,但长期以来一直缺少适用于实验动物四诊和辨证的方法、技术和理论。这既不符合中医的理论与实践,又忽视了中医的辨证优势。

第三节 大鼠/小鼠辨证论治方法学的创建和发展

我们在长期的动物实验中,再观察到大鼠/小鼠存在体质差异,以及同病异证、异病同证的现象。而不加辨证的治疗,疗效往往受到限制,甚至会产生不良反应。鉴于中医四诊和基于四诊的辨证具有简便、有效、非创伤、成本低,能抓住患者病证的一些关键环节,实施有效的治疗等特点和优势,我们提出模拟中医四诊和辨证的思路、方法,探索和创建大鼠/小鼠基于四诊辨证的假说;指出建立大鼠/小鼠四诊和辨证方法,是辨证论治学术发展的必然趋势和要求,而这已成为我国中医药学科的关键而迫切的学术问题。为此,我们开展了长期的研究,并取得积极的进步。

一、大鼠/小鼠四诊方法学创建与发展

1. 问题的提出

- 1) 大鼠/小鼠四诊提法的理论依据是什么?
- 2) 大鼠/小鼠能不能模拟中医临床的望、闻、问、切四诊,建立起近似于人类的大鼠/小鼠四诊采集的方法?如何证明这样的方法是正确的、可行的?
- 3) 大鼠/小鼠所采集的四诊信息能不能满足辨证的需要?
- 4) 如何实现大鼠/小鼠四诊信息的标准采集、量化的采集,以及标准化、客观化、量化的辨证?如何准确地评价证候及其程度,并作为药效评价指标?
- 5) 能不能提高四诊采集效率,以满足大样本实验的需要?如何使所建立的方法便于操作与普及?

2. 所开展的工作^[1~14]

(1) 提出假说

提出小鼠基于四诊辨证的假说,提出既往证候动物模型实验存在的系列学术

问题。

(2) 开展小鼠“四诊”的理论研究

从理论上证明小鼠与人类相似,是可以实施四诊和辨证的,阐明了实验小鼠实现“四诊”的可能。

在“问诊”方面:论证了小鼠在问诊方面难以采集的信息,以及通过遗传、饲养、造模、治疗干预、行为学等观察,部分体检等手段,可以详细、准确获得大量问诊所期望获得的信息,其中一些信息还可以精确定量,因而其可靠性、准确性甚至优于临床的问诊。所采集的问诊信息非常丰富,是可以满足辨证之需的。

在“望诊”方面:论证了爪、尾的显微望诊可以部分替代面色、舌色的“望诊”,而红色程度的定量分析,在证候程度和疗效评价方面的优势大于临床望诊。

在“切诊”方面:论证了小鼠自然状态下心电图的采集,可以模拟促、结、代、数、疾、缓、迟7种脉象等。

(3) 创建小鼠四诊工作站

1) 思路。采用中医有关四诊和辨证论治的理论和方法,模拟中医临床四诊信息的采集方式,通过创建四诊采集工作站,实现小鼠的非创伤性四诊检测,同时部分实现四诊检测的标准化、计量化,提高四诊检测速度,以满足大样本的实验之需。

2) 设计原则。其内容包括非创伤性检测原则,标准化、客观化、计量化原则,可操作性原则,低成本原则,以及流水作业原则。

3) 创建了小鼠四诊工作站。该工作站包括:全身和局部数码拍照,爪和尾显微拍照,舌显微拍照;自然状态下心电快速采集;旷场自主活动、抖笼、抓力、体温等检测;体重、摄食量、饮水量测量;其他四诊信息的标准采集;计算机中央数据挖掘和处理等。以后将陆续对其有所调整和发展。

4) 获得一项专利。小鼠自然状态下心电的快速采集,申请并被批准为中华人民共和国发明专利(2003年),专利号:ZL03116816.7。

(4) 小鼠四诊工作站的使用与完善

在对我国常见虚证动物模型进行了系统研究的基础上,我们参考了所涉及的实验动物证候及其采集方法,采用C57、BALB/c、ICR、昆明小鼠等国际常用的不同品系小鼠,开展了环磷酸胺气虚模型、番泻叶气虚模型、乙酰苯肼血虚模型、尾静脉放血的血虚模型、甲状腺素阴虚模型、氢化可的松阴虚模型、丙基硫氧嘧啶阳虚模型、氢化可的松阳虚模型等8种常见气血阴阳虚证模型的造模与比较研究;尝试在这些模型建立的基础上实施中药干预及疗效评价;尝试荷瘤小鼠的四诊检测与观察;尝试荷瘤小鼠的辨证论治、荷瘤小鼠分期论治;配套开展有关病理检测和有关证候组织基因表达的检测,初步验证了以上的假说,验证和发展了四诊工作站及其标准,初步证明所建立四诊工作站及其方法、标准是适用于不同品系小鼠的。

(5) 建立有关标准

在大量研究的基础上,初步建立起两个标准:

- 1) 小鼠四诊采集项目标准。
- 2) 小鼠四诊工作站及其操作标准。

注：以上具体内容可参见方肇勤主编《辨证论治实验方法学——实验小鼠诊法与辨证》。

(6) 计量化四诊指标的比较与筛选

我们在反复比较了悬尾不动、抖笼、旷场、抓力等方法后,发现抓力与旷场检测能够较客观地反映大鼠/小鼠气的盛衰,可以计量化检测乏力、懒动等气虚程度;具有较好的重现性、客观性,及可操作性。最终确立将旷场、抓力入选为气虚的计量化检测指标。

(7) 小鼠四诊工作站向大鼠的延伸

鉴于大鼠在中医药实验研究中运用比较频繁,我们在小鼠四诊工作站的基础上,发展了大鼠四诊检测。

(8) 大鼠/小鼠四诊工作站及其标准的发展和完善

1) 在四诊工作站中引入红外成像技术,以及初步探索和建立红外成像检测结果的分析方法。

2) 积累起较为丰富的大鼠/小鼠常见疾病与证候望诊图谱,不断完善望诊技术。

3. 结论

1) 所提出的大鼠/小鼠四诊的思路是符合中医理论与实践的。

2) 所建立的大鼠/小鼠四诊工作站及其方法和标准,可以模拟中医临床的四诊,是可以满足辨证需要的。

3) 所建立的大鼠/小鼠四诊工作站及其方法和标准,初步实现了四诊信息的客观化、标准化、计量化的采集,是可以用于证候及其程度的评价,以及辨证论治疗效评价的。

4) 大鼠/小鼠四诊工作站及其标准是便于操作与普及的。

5) 在中医临床上,难以标准和定量地四诊采集与辨证,是学术界公认的薄弱环节。大鼠/小鼠标准化、计量化四诊采集与检测技术的探索和发展,对于中医临床四诊客观化、标准化的采集是具有借鉴意义的。

二、大鼠/小鼠辨证方法学创建与发展

1. 问题的提出

1) 如何实现大鼠/小鼠的辨证?

2) 大鼠/小鼠辨证方法是否符合中医临床实际? 动物辨证结论确定的标准和理论依据是什么?

3) 如何实现辨证的标准化、计量化? 该方法能不能用于辨证论治及其疗效评价?

4) 计量辨证标准与中医理论是否存在较大的差异?

2. 所开展的工作^[1~14]

(1) 建立小鼠常见证候辨证标准

- 1) 寒、热、虚、实等辨证标准。
- 2) 阴虚证、阴虚火旺、阳虚证、阴阳两虚、气虚证、血虚证等辨证标准。
- 3) 部分病邪的辨证标准。
- 4) 五脏证候的辨证标准。

以上各标准是我们模拟中医辨证思路与方法初步建立的,各标准涉及建立各四诊信息的正常参考值、部分检测数据的校正、症状归类预处理方法等。

(2) 建立小鼠标准化、计量化辨证标准

其思路是,模拟中医辨证方法,在精简四诊检测内容的基础上,标准化、计量化地辨证,并使之可以实现量化的疗效评价。其主要工作包括:

1) 探索和建立计量化辨证公式

$$\begin{aligned} \text{例如: 气盛衰度} = & \frac{\text{各动物水平移动实测值(后文简写为“水平”)}}{\text{正常组均数}} \times 0.3 \\ & + \frac{\text{各动物直立次数实测值(后文简写为“直立”)}}{\text{正常组均数}} \times 0.2 \\ & + \frac{\text{各动物抓力实测值(后文简写为“抓力”)}}{\text{正常组均数}} \times 0.5^* \end{aligned}$$

(* 本公式中“正常组均数”是指其相应检测值的正常组均数,下同。)

式中,抓力权重大是因为该检测重现性较好;水平移动较直立次数权重大,是因为前者较灵敏和重现性好。与正常组均数比较,可以校正批次检测的误差,以及便捷地显示所检测值的强弱、大小。该公式综合了旷场水平移动、直立次数,以及抓力。

2) 探索和建立辨证的入选标准和阈值

例如:气盛衰度与正常组比较,>1.25 为气盛,<0.75 为气虚,<0.5 为气虚甚,<0.25 为气亏。研究和阐述了辨证阈值确定的依据,提出了建议。

3) 建立的计量化指标

其内容涉及:气虚(或气盛)、阴虚、阳虚(或阳盛)、血虚(或气血充盈),以及肿瘤的邪毒壅盛、糖尿病的胃热、肥胖的痰湿等。

(3) 建立大鼠标准化、计量化辨证标准

在小鼠标准化、计量化辨证标准的基础上,建立大鼠的标准;并依据不同疾病、证候、实验动物等特点,予以增补和调整辨证标准。

3. 结论

- 1) 大鼠/小鼠辨证的思路是符合中医理论与实践的。
- 2) 所建立的大鼠/小鼠辨证方法及其标准,是符合中医临床实际的。
- 3) 所建立的大鼠/小鼠计量化辨证方法及其标准,也是符合中医临床实际的,