

• 理论研究 •

## 病证结合动物模型判定标准的建立<sup>\*</sup>

赵慧辉 郭书文 王 伟<sup>#</sup>

(北京中医药大学 北京 100029)

**摘要:**证候动物模型是中药复方及中药制剂药效和药理研究的基本工具,而复制能充分体现中医证候特征的动物模型是准确反映中药药效的前提。从模型动物宏观表现判定或个别理化指标判定、以方测证、根据造模因素推测认定是病证结合证候动物模型目前使用的几种判定方法。通过分析这几种方法的不足,提出采用临床诊断标准的等效对应进行动物模型证候属性的判定是较为科学和合理的,并详细阐述了采用临床诊断标准的等效对应进行动物模型证候属性判定中的 3 个关键问题:证候临床诊断标准中的宏观指标在模型动物的宏观等效对应、证候临床诊断标准中的微观指标在模型动物的微观等效对应、证候临床诊断标准中的宏观指标在模型动物的微观等效对应及关联的方法。

**关键词:**病证结合;模型;标准;证候

**中图分类号:** R241

## Establishment of judgement criteria in animal model combined disease and syndrome<sup>\*</sup>

ZHAO Huihui, GUO Shuwen, WANG Wei<sup>#</sup>

(Beijing University of Chinese Medicine Beijing 100029)

**Abstract:** The animal model of syndrome is a basic tool used in the study of effects and pharmacology of Chinese compound formulas and preparations. It is the precondition for reflecting the effects of Chinese herbal remedies accurately to copy the animal model with TCM syndrome characteristics. A few of judgement methods for animal model of syndrome combined diseases and syndromes include judgement of micro-manifestations or several physicochemical indexes, speculation of syndromes by formulas and conjecture according to modeling factors. The disadvantages of these methods were analyzed here and equivalent correspondence of clinical diagnostic criteria was provided for the determination of syndrome attributives in animal model scientifically and rationally. Three questions were expounded in detail which were very important in the determination of syndrome attributives in animal model by applied the equivalent correspondence of clinical diagnostic criteria, including macro-equivalent correspondence of macroscopic indexes of clinical syndrome diagnosis in model animals, micro-equivalent correspondence of microscopic indexes of clinical syndrome diagnosis in model animals and micro-equivalent correspondence and association of macroscopic indexes of syndrome diagnosis in model animals.

**Key words:** combination of disease and syndrome; model; criteria; syndromes

证候是中医诊断和治疗的核心,是中药干预的对象。因此,证候动物模型是中药复方及中药制剂药效和药理研究的基本工具,而复制能充分体现中

医证候特征的动物模型是准确反映中药药效的前提<sup>[1]</sup>。目前存在的证候动物模型研制思路主要有 5 种:病因造模、药物造模、病理造模、病因病理结合模

赵慧辉,男,博士,助理研究员

<sup>#</sup>通讯作者:王 伟,男,博士,教授,博士生导师,主要研究方向:心血管病证结合研究

<sup>\*</sup> 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(No. 2003CB517105)、国家科技重大专项(No. 2009ZX09502-018)

型、病证结合模型。其中,病证结合动物模型既有西医疾病的病理特点,又有中医证候的特征,是宏观和微观的结合,在证候生物学基础未阐明的情况下是较为合适的研究模式<sup>[3]</sup>,最具实用价值。

### 1 病证结合动物模型证候属性的判定方法

模型动物证候属性的判定是构建病证结合动物模型的核心环节,现阶段对于病证结合动物模型的判定方法仍处在探索中,主要有以下几种途径。

#### 1.1 从模型动物宏观体征、行为表现判定

即从造模后模型动物的宏观表现判定所属证候。如模型大鼠出现疲乏无力,活动少,精神萎靡,多蜷缩,呼吸困难,活动后明显,口唇及舌质发黯,严重的呈瘀斑、瘀点等表现,为“既有气虚证症状,又有血瘀证表现,符合气虚血瘀证辨证标准”<sup>[3]</sup>。或者拟定动物气虚血瘀症状、体征客观评估量表进行模型动物证候属性的判定<sup>[4]</sup>。这种方法判定证候属性最为直接,也是常用的方法之一。但由于动物宏观的行为与体征信息尚待进一步拓展,临床的四诊信息往往很难在动物身上找到相应的表现;同时,有些动物的宏观行为与体征很难简单与相应的临床症状对应,如大鼠尾巴的颜色,其临床意义有待进一步研究,主观推定的诊断价值有待进一步论证。加上动物宏观信息采集的难度以及判断的主观性较强、不易量化等问题,判定证候往往证据不足。

#### 1.2 以证候相关的个别理化指标判定

由于在动物宏观的行为与体征观察中遇到的困难,部分学者参考证候生物学基础研究的成果<sup>[3]</sup>,将临床报道与证候相关的理化指标纳入证候诊断指标。如测定气虚血瘀证相关的心血管功能和血浆肾素活性(PRA)、血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、血栓素B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)、纤溶酶原激活物抑制剂(PAI-1)及心脏结构的变化来判定模型的证候属性。但目前证候理化指标研究的现状是,找到了一些相关的理化指标<sup>[9]</sup>,但均不特异,不能作为证候诊断的特异性指标。且动物的这些理化指标变化反映的内容是否与人的一致?这个问题尚不能回答。因此,据此来判定模型的证候属性证据是不充分的。

#### 1.3 中药药物反证法判定

以方测证,依据模型动物对不同治则的代表性方剂的反应性,推测其证候属性。如根据不同治法,选择临床上常用且疗效确切的治疗不同证型的经典小复方,通过比较其对某些特异性检测指标的影响,以确定该模型属于何种证型<sup>[7]</sup>。这种方法对模型动物证候的判定有一定的参考价值,但由于中药相对证型

并没有一对一的关系,且药物反证无效不一定不对证,故而这种认定不具有特异性,其推理严密性日益受到质疑,多数的研究已仅把以方测证作为佐证。

#### 1.4 根据造模因素推测认定

根据造模因素,从中医病因角度推测认定证候属性的方法。如认为动物过劳可以造成气虚模型。这类评价方法审因测证,缺乏确切的动物证候诊断方法,同时由于中医病因致病的复杂性,同样的致病因素可能出现不同的证候,影响了模型证候的唯一性。

目前,多数的研究单用以上提到的前4种方法或者选择性联合应用前4种方法。而根据病因推测、完全依赖表征或个别理化指标判定、以方测证等评价方法都受到了质疑,公认动物证候评价方法的缺乏严重制约了病证结合动物模型的研究进展。病证结合动物模型复制的原则是真实地模拟临床证候。因此,我们认为动物证候的评价方法,应当依据临床病证结合的证候诊断标准,通过将临床四诊信息替代以具有相同或相似病理生理意义的动物表征来实现。模型动物证候属性的判断有赖于人与动物、微观与宏观的指标体系和证候属性的比较和同质性判定。即动物模型的证候属性的判定采用临床诊断标准的等效对应。目前已有初步的相关成果,如动物心气虚的诊断依照中医虚证辨证标准采用中国中西医结合学会虚证和老年病专业委员会1986年5月修订的虚证辨证标准。其中,心悸或胸闷、神疲乏力分别以心率、呼吸、力竭性游泳时间测定表示;心功能障碍等参考标准以血流动力学指标表示<sup>[9]</sup>。动物血瘀的诊断依照中医血瘀证辨证标准采用中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会1986年11月修订的血瘀证辨证标准<sup>[9]</sup>。该标准中规定的血瘀证诊断主要依据:血管阻塞和实验室依据分别以心电图、纤维蛋白原、血小板最大聚集率表示<sup>[10]</sup>。采用临床诊断标准的等效对应进行动物模型证候属性的判定思路是较为科学和合理的,这种模型的判定思路与中医的临床实际较接近,更具说服力。

### 2 病证结合动物模型证候属性判定的几个关键问题

采用临床诊断标准的等效对应进行动物模型证候属性的判定方法目前正处于探索阶段,主要存在以下几个关键性的科学问题。

#### 2.1 证候临床诊断标准中的宏观指标在模型动物的宏观等效对应

以临床在病证结合条件下证候的诊断标准为依据,通过将患者的证候诊断指标与动物表征指标的

相同生理病理意义进行比较,可对患者与动物模型证候属性进行同质性判定。望诊是实验动物表征采集的重要方式。在模型动物的动态观察中,要尽可能全面采集模型动物的宏观信息<sup>[11]</sup>。对动物异常表现的判断是建立在长期、大样本、多批次的、同种属正常动物的动态观察基础上的<sup>[12]</sup>。参照临床正常值拟定的原则与方法,初步确定实验动物的正常表现。在此基础上观察到模型实验动物的异常表征对于证候的诊断具有较大的价值。对于在人类同样存在的部分表现,可以根据动物的行为表现直接对其属性进行认定,如饮水量增加可以部分反映动物口渴,饮食量减少可以部分反映动物纳差等。对于在中医学很少观察但在兽医学有相关的论述的部分症状和体征,可以参考中兽医学的理论及诊断,如小型猪的鼻盘与证候的关系。对于一些宏观表现可以采用同等病理生理意义的指标来替代。例如,临床舌诊是判断证候属性的重要诊断指征,但是在实验动物存在一定的操作难度,我们前期的研究发现:小鼠爪和尾的颜色变化易于观察,且与舌色的变化存在一致性。因此,考虑将爪色、尾色的观察作为舌色的替代指征,以提高望诊采集方法的可操作性。

## 2.2 证候临床诊断标准中的微观指标在模型动物的微观等效对应

这是关于证候诊断标准中的微观指标是怎样用动物的微观指标来反映的问题。在同一疾病状态下,实验动物与人类有着相似的病理生理基础,也就是说在病理生理变化层面存在着很大的一致性。在人类病理生理层面的变化伴随着四诊信息的出现,而在动物,这些病理生理层面变化伴随着表征的改变。病理生理层面的变化模式也可能成为沟通人类证候与模型动物证候的桥梁,成功地实现临床证候诊断标准到动物证候判定方法的转化。我们前期的研究工作提示:系统生物学的手段和方法可以在不预设指标的情况下对所有参与疾病病理过程的分子从整体上进行筛选<sup>[13]</sup>,而支持向量机、决策树、互信息、Lars回归等多种数据挖掘方法可以成功地找到证候(或证候要素)与理化指标之间的具有诊断意义的关联模式<sup>[14-15]</sup>,并在心肌缺血心血瘀阻证动物模型的评价中得到验证。与通过临床证候四诊信息替代以具有相同病理生理意义的动物表征而直接进行的动物证候判定相比,其一致性在 80% 以上。

需要注意的是,人和动物的同一种微观指标可能相距甚远,正常范围也不同。要对数据进行归一化处理后才可比较,这方面以往大多数研究没有进

行数据的转化。

## 2.3 证候临床诊断标准中的宏观指标在模型动物的微观等效对应及关联

证候诊断标准中的宏观指标即用动物的具有等效生物学意义的指标来替换的方法。如游泳力竭时间缩短可以反映大鼠神疲乏力,呼吸频率加快可以反映大鼠喘促,心电图描记到心律失常可以部分反映心悸或结、代等脉象。

宏观指标与微观指标的关联一直是学术界亟待解决的一个难题,也是一个瓶颈问题,其直接关系到临床证候诊断准确性以及模型动物宏观诊断指标的扩展。笔者所在研究团队发现复杂系统熵聚堆算法可以用作联系宏观临床症状、体征与微观指标的一个桥梁<sup>[16]</sup>,是这方面研究的有益尝试。

此外,由于在疾病的过程中,证候可能发生转化,而且模型个体在相同的造模方法下证候表现可能会有差异。因此,模型动物证候属性的判定强调动态和全面,注意诊断与鉴别诊断,注意证候属性特征的时间窗。

## 3 结语

总之,病证结合的动物模型用于中药的药效评价具有独特的优势,较西医疾病模型和单纯中医证候模型更具说服力。相信在不远的将来,这种“病证结合”动物模型将会得到进一步提高和发展,对中医“证”基本科学问题的最终揭示,以及中西医结合的研究起到极大的推动作用。研制病证结合动物模型对于全面推进中药产业的发展、充分发挥中医药的优势有十分重要的意义。而病证结合动物模型的判定方法是模型是否成功的关键,没有明确的标准就没有合格的模型产品。我们在实践中,应当不断探索、完善证候动物模型的判定方法,为其用于新药开发奠定坚实的基础。

## 参考文献:

- [1] 郭书文, 孟庆刚, 王硕仁. 病证结合模型的研究思路[J]. 中医学报, 2001, 29(1): 2-4.
- [2] 赵慧辉, 王伟. 病证结合证候模型研究思路[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(12): 762-764.
- [3] 张艳, 方素清, 姜凯, 等. 慢性心衰气虚血瘀证大鼠模型的研究初探[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(8): 14-15.
- [4] 李净, 王键. 益气活血法改善气虚血瘀证局灶性脑缺血再灌注模型鼠生物学特征的有效性评价[J]. 中医基础医学杂志, 2003, 9(4): 22-25.

(下转第 373 页)

561—562

- [2] 王米渠,王 宇,骆永珍,等.“恐伤肾”对小鼠红细胞免疫及免疫器官的影响[J].成都中医药大学学报,1996,19(2):34—35.
- [3] 雷妮妮,黄真炎,郑高飞,等.肾虚、脾虚造型动物免疫超微结构的比较研究[J].深圳中西医结合杂志,1999,9(2):14—15.
- [4] 吴 斌,丁维俊,王米渠.肾虚与免疫的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2003,1(11):669—671.
- [5] 李庆阳,郑家铿.老年肾虚与 T 细胞亚群关系[J].福建中医学院学报,2001,11(2):5—6.
- [6] 陈小峰.肾与白细胞介素的关系[J].中国中医基础医学杂志,2000,6(12):37—39.
- [7] 徐 红,程忠平,马庆良,等.盆腔子宫内异位症患者 NK 细胞表面自然细胞毒受体表达的研究[J].现代妇产科进展,2007,16(5):358—361.
- [8] 孙 琳,万 莉,胡昌玲,等.子宫内异位症患者外周血单个核细胞 T 细胞亚群 mIL-2R 表达及临床意义[J].现代预防医学,2007,34(3):467—468.
- [9] 杨 蓓,田永杰.免疫因素在子宫内异位症发病中的作用研究进展[J].山东医药,2007,47(11):72—73.
- [10] 徐开红,石一复,董 岳,等.子宫内异位症患者腹腔液 L-2 型辅助 T 细胞因子的测定[J].中华妇产科杂志,2001,36(4):244.
- [11] 俞超芹,刘玉环,彭新萍,等.内异方对子宫内异位症 IL-6、IL-10 的调节作用[J].第二军医大学学报,1999,20(9):621—623.
- [12] 徐洪云,曹玉民,李建霞,等.IL-6 与子宫内异位症发病关系的研究[J].现代妇产科进展,2007,16(1):57—59.
- [13] 张云飞,文秀华,罗茂林.肾虚本质的现代研究进展[J].现代中西医结合杂志,2004,13(8):1101—1103.
- [14] 彭新萍,俞超芹,郭 峰,等.子宫内异位症动物模型红细胞免疫功能变化及中药内异方的影响[J].现代妇产科进展,2001,10(4):279—281.
- [15] 李大金,朱关珍,朱 影,等.子宫内异位症的免疫功能[J].中国免疫学杂志,1995,11(增刊):87.
- [16] 刘金星,秦元军,张家英.化痰消痰、软坚散结法治疗家兔实验性子宫内异位症的研究[J].山东中医药大学学报,1998,22(3):227—229.
- [17] 刘杰文,齐淑玲.血瘀证实质和活血化瘀药物作用机理的研究[J].中医药通报,2003,2(1):2—9.
- [18] 谭先杰,郎景和,刘东远,等.血管内皮生长因子及血小板反应素在异位子宫内组织中的表达[J].中华妇产科杂志,2001,36(12):727—730.
- [19] 方素云,阎建忠.转化生长因子- $\beta_1$ 与子宫内异位症关系的研究[J].中国医科大学学报,2000,29(3):234—235.
- [20] 刘 蓓,王卫疆,张 力,等.白细胞介素-1 $\beta$ 及 C 反应蛋白与子宫内异位症的相关性[J].中国实用妇科与产科杂志,2007,23(12):958—959.
- [21] 夏桂成.辨治子宫内异位症的体会[J].天津中医学院学报,1995,14(4):1—2.
- [22] 李祥云.补肾祛瘀法治疗子宫内异位症[J].中国临床医生,2003,31(8):50—52.

(收稿日期:2008-12-28)

(上接第 367 页)

- [5] 赵慧辉,王 伟.不稳定性心绞痛血瘀证的血浆蛋白组学研究[J].化学学报,2009,67(2):167—173.
- [6] 赵慧辉,王 伟.冠心病血浆主要标志物研究现状[J].中国动脉硬化杂志,2008,16(4):335—336.
- [7] 陈世宏,叶 耘,尚正录,等.不同治法对大鼠心肌缺血模型中医证型的反证研究[J].上海中医药大学学报,2005,19(4):36—38.
- [8] 王硕仁,王振涛,赵明镜,等.心气虚病证动物模型及其评价体系的构建[J].中国实验动物学报,2002,10(1):33—38.
- [9] 赵慧辉,王硕仁,王 伟.常用心绞痛气虚血瘀证证候诊断标准的异同分析[J].北京中医药大学学报,2008,31(1):39—41.
- [10] 郭淑贞,王 伟,刘 涛,等.小型猪冠心病(心肌缺血)血瘀证模型血液流变学及超声评价[J].中华中医药学刊,2007,25(4):702—705.
- [11] 潘志强,方肇勤,章怡祎.行为学检测在实验小鼠辨证中的应用[J].上海中医药大学学报,2007,21(1):33—36.
- [12] 方肇勤,潘志强,陈 晓.实验小鼠四诊方法学的创建和意义[J].上海中医药杂志,2006,40(7):1—4 封三.
- [13] 赵慧辉,侯 娜,王 伟.荧光标记法分析心绞痛血瘀证的差异蛋白[J].光谱学与光谱分析,2009,29(6):1647—1650.
- [14] 陈建新,西广成,王 伟,等.数据挖掘方法在冠心病临床应用的比较[J].北京生物医学工程,2008,27(3):249—252.
- [15] WANG W, ZHAO H H, CHEN J X, et al. Bridge the gap between syndrome in Traditional Chinese Medicine and proteome in western medicine by unsupervised pattern discovery algorithm[J]. IEEE International Conference on Networking Sensing and Control 2008: 745—750.
- [16] 赵慧辉,王 伟,陈建新,等.基于复杂系统熵聚堆算法的心绞痛血瘀证宏观与微观指标的相关性研究[J].北京生物医学工程,2008,27(5):462—465.

(收稿日期:2009-03-11)