

全国普通高等教育基础医学类系列配套教材

吴大梅 主编

中医实验学

TRADITIONAL CHINESE MEDICINE
EXPERIMENT

供中医学、中西医结合临床、针灸推拿学
等相关专业使用



科学出版社

中医实验学

吴大梅 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书分为绪论,中医实验动物方法学,中医实验动物模型研究,实验仪器与操作,试剂、溶液的配制,中医验证性实验,中医综合性实验,中医设计性、创新性实验八个部分,内容编排遵循由浅入深、由易到难、由基础到创新的原则,注重中医学理论与实践相结合。本书综合运用当代生命科学实验思维、方法与技术的能力,培养了学生的基本动手能力,兼有实用性、适用性与创新性。

本书适用于中医学、中西医结合临床、针灸推拿学等本科相关专业学生,也可供中医学专科及非医学专业的学生参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

中医实验学/吴大梅主编. —北京: 科学出版社,
2017. 1
ISBN 978 - 7 - 03 - 050947 - 5

I. ①中… II. ①吴… III. ①中医学—实验—中医学
院—教材 IV. ①R2 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 281951 号

责任编辑: 闵 捷
责任印制: 谭宏宇 / 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>

南京展望文化发展有限公司排版

上海叶大印务发展有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017 年 1 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2017 年 1 月第一次印刷 印张: 8 1/4

字数: 180 000

定价: 32.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《中医实验学》 编辑委员会

主 编

吴大梅

副主编

高 洁 刘 杨

编 委

(按姓氏笔画排序)

丁 倩	王庆学	方为民	庄田畋
刘 杨	杨长福	杨 毅	李 文
李 军	李 霞	吴大梅	吴筱枫
陈云志	陈 聪	陈耀辉	罗振亮
岳文鹏	赵 博	赵 瑜	秦 钟
袁端红	柴艺汇	倪祥惠	高 洁
郭 斌	曹 峰	韩章勇	薛 蕾

前 言

随着科学技术的发展和高等中医药教育教学改革的不断深化,中医实验学应运而生。中医实验学是用科学实验的方法研究和发展中医学的一门实践性较强的学科,是中医基础的重要课程之一,其教学目的是提高中医专业学生的素质和能力,培养其综合创新能力,并使之能初步掌握中医实验研究的思路和基本方法,开展对中医药的科学研究,为中医学术的继承、发展和创新做出贡献。

本书以中医理论为指导,以“以学生为中心”为理念,以培养实用型人才为目标,以培养学生的创新精神和实践能力为重点,以便于培养学生信息获取能力、继承创新及终生学习的能力,使学生在中医药研发中能综合运用当代生命科学实验思维、方法与技术,并能运用现代科学研究方法与技术进行研究、优化实验内容。本书以新教学计划和大纲为依据,强调“三基”的重要性,即“基本理论、基本知识、基本技能”,重点介绍了中医实验的基本知识、基本方法以及中医验证性实验,综合性实验,设计性、创新性实验等内容。

本书的编写凝集了贵阳中医学院教务处、基础医学院领导及中医基础教研室各位老师的关心与支持,以及全体参编人员的辛勤劳动,在此一并表示感谢。由于编写匆忙,加之编者水平有限,本书仍有许多不足之处,还需要在教学实践中不断总结与修订,恳请各位读者提出宝贵意见,以便再版时修订。

主 编

2016 年 10 月

目 录

前言

绪论	1
第一节 中医实验学课程目的、要求	1
一、中医实验学课程目的	1
二、中医实验学课程要求	1
三、中医实验学实验室守则	2
第二节 中医实验设计	3
一、实验设计的意义	3
二、实验设计的基本内容	4
三、实验设计的基本原则	4
四、实验设计的常用方法	5
五、实验设计的书写规范	5
第三节 中医实验记录的基本知识	5
一、实验记录的书写要求	5
二、实验记录的具体内容	6
三、实验记录的注意事项	6
四、实验记录的不良习惯	6
第四节 中医实验报告的书写方法	8
第五节 中医实验学的学习方法	9
一、强化中医学基础	9
二、端正热情积极的态度	10
三、培养独立科学研究的能力	10
四、培养获取新知识的能力	10

五、追求实事求是的精神	10
第一章 中医实验动物方法学	11
第一节 概 述	11
一、实验动物的选择原则	11
二、实验动物的选择方法	12
三、实验动物的健康状况判断标准	12
第二节 常用实验动物的基本知识	13
一、小鼠	13
二、大鼠	13
三、豚鼠	13
四、家兔	14
五、犬	14
第三节 常用实验动物的基本操作	15
一、实验动物的编号标记及去毛方法	15
二、实验动物的捉持方法及给药途径	16
三、实验动物的处死方法	18
四、实验动物的用药剂量确定	18
第二章 实验动物模型研究	20
第一节 中医学动物实验的研究特点	20
一、中医学动物实验的优势	20
二、中医学动物实验的研究不足	21
三、未来中医学动物实验的思考	22

第二节 实验动物模型的复制与研究	23
一、中医实验动物模型的选择原则	23
二、中医实验动物模型的复制方法	23
三、中医实验动物模型复制方法的研究	24
第三章 实验仪器与操作	26
第一节 离心机的使用	26
一、使用步骤	26
二、注意事项	26
第二节 光学显微镜的使用	27
一、使用步骤	27
二、注意事项	27
第三节 微循环显微仪的使用	28
一、使用步骤	28
二、注意事项	29
三、维护和保养	29
第四节 四通道生理记录仪的使用	30
第五节 血液流变分析仪的使用	30
一、工作原理	30
二、使用步骤	30
第六节 无创大鼠尾动脉测压仪的使用	31
一、鼠袋的使用方法	31
二、使用步骤	32
三、注意事项	35

第四章 试剂、溶液的配制	38
第一节 试剂、溶液的配制方法	38
一、水溶液	38
二、混悬液	38
三、乳剂	38
四、酞剂	38
五、溶液剂	39
第二节 试剂、溶液浓度的表示方法	39
第三节 试剂、溶液配制的注意事项	40
第五章 中医验证性实验	43
第一节 肝主疏泄对胆汁分泌影响的实验观察	43
第二节 “汗为心之液”的实验观察	48
第三节 肺“吸清呼浊”与“外合皮毛”的实验观察	50
一、肺“吸清呼浊”实验	50
二、肺“外合皮毛”实验	51
第四节 “肾主小便”的实验观察	51
第五节 “气能摄血”的实验观察	53
第六节 元气充沛与否对小鼠耐缺氧时间影响的实验观察	55
第七节 “湿阻气机”的实验观察	58
第八节 寒热对血液运行影响的实验观察	58
第九节 寒邪与热邪致病的实验观察	59
第十节 “心合脉”与脉象图的实验观察	62
第十一节 胃肠“传化水谷”的实验观察	63

第十二节	“脾在液为涎”的实验观察	64
第十三节	“肺与大肠相表里”的实验观察	65
第十四节	十二经脉循行路线的实验观察	66
第十五节	生三七对小鼠凝血时间作用的实验观察	66

第六章 中医综合性实验

68

第一节 微循环实验

68

实验一 甲襞微循环检测

68

实验二 舌尖与球结膜微循环检测

71

第二节 舌象实验

75

实验一 舌苔脱落细胞制片与染色

75

实验二 舌苔脱落细胞的镜检分析

76

第三节 面部色诊实验、光电血管容积图的检测分析

78

实验一 面部色诊与光电血管容积图的检测分析

78

实验二 中医舌色与舌光电血管容积图的检测分析

83

第四节 中医证候动物模型制作实验

85

实验一 急性气虚(气脱)证动物模型的复制

85

实验二 心血瘀阻证家兔血压、心电、呼吸的检测分析

87

实验三 心气虚证家兔左室内压的测定分析

90

实验四 心气虚证候的动物模型复制

92

实验五 脾虚证候动物模型的复制

94

实验六 肺气虚证和肺阳虚证动物模型的复制

95

实验七 肾阳虚证动物模型的复制

97

实验八 肾阴虚证动物模型的复制

98

实验九 少阴寒化证大鼠模型的建立	99
实验十 少阴病心肾阳虚证家兔模型的建立	100
实验十一 少阴病热化证大鼠模型的建立	101
实验十二 少阴病阳虚水停证家兔模型的建立	102
第五节 中医经典方的实验观察	103
实验一 吴茱萸汤对肝寒犯胃家鸽呕吐模型的防治作用	103
实验二 桂枝汤的加减药味量效关系的拆方实验	104
实验三 小青龙汤的平喘作用	105
实验四 四逆汤及附子、干姜、甘草对大鼠心肌收缩力及心率的影响	106
实验五 四逆汤对低血容量、低血压大鼠血压的影响	107
实验六 桃核承气汤、抵挡汤对局部血液循环障碍的改善作用	109
实验七 大陷胸汤对大鼠的利尿作用	110
实验八 小柴胡汤的解热作用	111
实验九 麻黄汤对大鼠足趾汗液分泌的影响	112
第七章 中医设计性、创新性实验	114
一、实验目的	114
二、基本程序	114
三、选题范围	115
四、实施方法	115
五、评分标准	116
主要参考文献	117

绪 论

第一节 中医实验学课程目的、要求

一、中医实验学课程目的

中医实验学是中医基础理论、中医诊断学、中药学的配套课程,也是主要实践环节之一。其不仅能强化理论课的教学内容,还具有特定的教育作用。中医实验学结合了中医学多门课程的内容,能使抽象、深奥的理论得到直观的体现,所学的知识系统化,中医理法方药得以完整再现,中医中药的神奇效果得以验证,从而加深学生对中医学基本理论的理解。

开展中医实验学教学的目的在于:

(1) 通过实验使学生学习和掌握实验的基本操作技能;具有实验结果分析和实验报告的写作能力。培养学生提出问题、分析问题、解决问题的科学思维方法,养成实事求是、严谨求证的工作态度和规范操作、分工协作的工作作风。

(2) 验证中医学的基本理论,使学生更牢固地掌握中医学的基本概念、基础理论、基础知识、基本技能。

(3) 使学生掌握实验常用指标的测量方法,了解实验设计的一般原则和方法,并做初步尝试。培养学生科学研究的基本素质,培养学生客观地对事物进行观察、比较、分析和综合的能力,以及独立思考、解决实际问题的能力。培养创新意识及从事科学研究的兴趣,为今后进行中医药科学研究工作打下良好基础。

二、中医实验学课程要求

一次完整的实验课包括实验前、实验中和实验后 3 个环节。

1. 实验前

(1) 应有目的地做好充分准备,提前预习实验教材,仔细阅读和研究实验指导,了解实验的基本内容、目的、原理、要求,以及实验步骤和操作程序。

(2) 结合实验内容,准备相关的中医学理论知识,事先有所理解,力求提高实验课的学习效果。

(3) 根据所学的中医学知识对各个实验步骤的可能结果做出预测,并尝试予以解释。

预测在实验过程中可能发生的问题、误差。这是避免被动盲目操作、提高实验课程质量的重要前提。

2. 实验中

(1) 认真听指导老师对实验的讲解,注意观察示教操作的演示。要特别注意指导老师所指出的实验过程中的注意事项。

(2) 经指导老师同意后才能进行实验。实验时按照实验指导列出的实验步骤和指导老师的讲解,严肃认真的循序操作,不可随意更动,不得擅自进行与实验内容无关的活动。

(3) 实验所用的仪器、器材和药品务必摆放整齐、布置妥当,合理使用。

(4) 实验小组成员在不同实验项目中,应轮流担任各项实验操作,力求每个人的学习机会均等。组内成员要明确分工,相互配合,各尽其职,统一指挥。

(5) 实验时要注意动脑筋思考,认真操作和仔细观察,及时如实记录,经常给自己提出种种问题,如:发生了什么实验现象,为什么会出现这些现象,这些现象有何意义等。有准备地进行观察,才能发现事物的细微变化和隐藏在表面以下的规律。实验中自行更改或设计项目应征求组员和指导老师意见。经指导老师许可后方能实施实验。

(6) 在实验中,规范操作尽量避免被实验动物抓伤、咬伤。若发生应立刻报告指导老师,进行妥善处理。

(7) 在实验过程中,若是遇到疑难之处,先要自己想方设法予以排除。解决不了时,应向指导老师汇报情况,请求给予协助解决。

(8) 指导老师示教的项目,应同样认真对待,努力取得应有的示教效果。

(9) 对于没有达到预期结果的项目,要及时分析其原因。条件许可时,可重复部分实验项目。

(10) 特别强调要珍惜实验条件和机会,保证实验课程质量,绝对不允许用实验动物和实验器械开玩笑。

3. 实验后

(1) 各组整理实验结果,清理实验器材,擦洗干净,妥善放置。如果发现器材和设备损坏或缺少,应立即向指导老师报告真实情况,并予以登记备案。临时向实验室借用的器材和物品,实验完毕后应立即归还。

(2) 清理好自己的场地,使用过的实验动物应按要求处理和摆放,注意取下连在动物身上的器械和装置。经指导老师或实验技术人员检查后方可离开实验室。值日生应清理好公共用品和场地,报告指导老师同意后方可离开。

(3) 仔细整理、收集实验所得的记录和资料,对实验结果结合中医学理论知识进行分析讨论,尤其应重视那些“非预期”的结果,并尝试做出解释。

(4) 指导老师进行实验总结,应积极参与。

(5) 认真填写实验报告,按时送交指导老师评阅,并予以记分。

三、中医实验学实验室守则

(1) 实验室是开展教学实验和科学研究的场所,学生进入实验室必须严格遵守实验

室各项规章制度和操作规程,注意安全。

(2) 遵守学习纪律,准时到达实验室。实验时因故外出或早退应向指导老师请假。

(3) 进入实验室前穿好白大衣,着装整齐,不得穿拖鞋,否则不能进入实验室进行实验。

(4) 一切非实验用品(如书包、衣物)不许带入实验室,桌面上不可乱放与本次实验无关的书籍、仪器、药品,以免影响实验的操作和实验室的整洁。

(5) 保持实验室内整洁、安静,不得随意走动,不做与实验无关的事。严禁喧哗、高声谈笑、吸烟、吃零食和随地吐痰。如有违反,指导老师有权停止其实验。

(6) 各实验小组的实验仪器和器材各自保管使用,不得随意与他组调换、挪用;爱护实验仪器,节约水、电、材料,节约实验用品,如需补发增添时,应向指导老师申报理由,经同意后方能补领。每次实验后应清点一下实验器材用品,若实验器材损坏、丢失,需赔偿。

(7) 实验用的试剂、药品、公用器具使用后应立即放回原处,注意不要调错试剂瓶塞或滴管,以免污染药品和影响结果。

(8) 实验动物只能由指导老师统一发给。要爱护和节约实验动物,按规定对其进行麻醉、手术和处理。严禁虐待动物。

(9) 严格遵守实验操作规程,注意安全,防止触电、感染和动物咬伤等事故发生。

(10) 保持实验室的整洁。实验完毕后,应及时清点实验器材和药品,整理实验台面。动物尸体、实验废液及纸片等应放到指定地点,不得随地乱抛,不得将含酸、含碱等有害溶液倒入下水道。

(11) 听取指导老师对本次实验进行归纳小结后,值日生打扫整个实验室卫生,离开实验室前,应关好门窗、水、电,离开时应检查一遍,经指导老师检查后方可离开实验室。确保安全,以免发生事故。

第二节 中医实验设计

实验设计就是为了解决如何做好实验的有关设计或安排实验方法。衡量实验设计的好坏是看实验设计的实验方案能否用比较经济的人力、物力和时间,得到较为可靠的结果,并且能否准确地控制和估计误差大小,使多种实验因素包括在较少的实验中,达到高效的目的。

一、实验设计的意义

实验设计是科学研究计划内关于研究方法与步骤的一项内容。在医学科研工作中,无论实验室研究、临床疗效观察或现场调查,在制订研究计划时,都应根据实验的目的和条例,结合统计学的要求,针对实验的全过程,认真考虑实验设计问题。一个周密而完善的实验设计,能合理地安排各种实验因素,严格地控制实验误差,从而用较少的人力、物力和时间,最大限度地获得丰富而可靠的资料。反之,如果实验设计存在缺点,就可能造成不应有的浪费,且足以减损研究结果的价值。总之,实验设计是实验过程的依据,是实验数据处理的前提,也是提高科研成果质量的一个重要保证。

二、实验设计的基本内容

1. 拟定相互比较的处理 所谓处理,指的是在实验研究中欲施加给受试对象的某些因素,也就是指实验研究中确定要对研究者实施的某个特定的处理因素,通过对其进行比较得出结果。如营养实验的各种饲料,治疗某病的几种疗法或药物,药理研究中某药的各种剂量等。在实验的全过程中,处理因素要始终如一保持不变,按一个标准进行实验。如果实验的处理因素是药物,那么药物的成分、含量、出厂批号等必须保持不变。如果实验的处理因素是手术,那么就不能开始时不熟练,而应该在实验之前使熟练程度稳定一致。

2. 确定实验对象及其数量 这里指的是实验所用的动物或活体组织标本等。在实验设计中,要根据实验观察的目的与内容,明确规定采用什么样的实验对象,实验对象中的每个实验单位必须具备的条件与要求,以保证受试对象的一致性。实验对象需要有一定的数量,例数不能太少,也不宜过多。

3. 确定各实验对象的分配原则 这主要是随机分配或随机化问题。

4. 拟定观察项目和登记表 要根据研究目的和任务,选择对说明实验结论最有意义,并具有一定特异性、灵敏性、客观性的观察项目。必要的项目不可遗漏,数据资料应当完整无缺;而无关紧要的项目就不必设立,以免耗费人力物力,拖延整个实验的时间,然后,要按照观察项目之间的逻辑关系与顺序,编制成便于填写和统计的登记表,以便随时记录实验过程中获得的数据资料。同一项目的度量衡单位必须统一符号(如+、++、+++等),应有明确的定义。

5. 拟定数据资料的处理预案 这就是对将获得的数据资料准备如何进行处理,要计算哪些统计指标,用什么统计分析方法等,事先必须有个初步的设想。例如对计数资料,是计算率还是百分比?若计算率,分子是什么?分母是什么?各组同一项目的某个率或百分比如何进行比较?又如对计量资料,是计算算术均数、几何均数还是中位数?同一项目各均数间应采用什么方法作比较?切忌实验设计时不认真考虑,实验过后拿数字去找统计方法。

三、实验设计的基本原则

从统计方面说,实验设计主要应该考虑对照、重复、随机化等问题,这就是实验设计的三大基本原则。

1. 对照原则 是使实验组和对照组(或加实验因素时和无实验因素时)的非处理因素处于相等状态,其结果是实验误差得到相应的抵消或减少。形式上有空白对照、实验对照、标准对照、自身对照等。必须使实验组中的非处理因素和对照组中的非处理因素均衡出实验的处理因素,减少非处理因素对结果的影响。

2. 随机原则 保证被研究的样本是由总体中任意抽取的,即抽取时要使每单位都有同等的机会抽取,以减少实验误差和人为因素干扰。

3. 重复原则 重复可消除偶然性造成的误差,样本越多,次数越多,结果越客观真实,误差越小。但在实际中有一定的困难,因此必须对选取的样本数目有一个估计,要增强实验的敏感性来减少样本数量。

四、实验设计的常用方法

1. 完全随机分组设计 完全随机分组设计是最常见的一种考察单因素两水平或多水平间的效应有无差别的实验设计方法。受试对象完全按随机原则分配到试验组和对照组,对他们的效应进行平行观察,最后对结果进行成组比较的统计分析。例如欲研究某中药抗炎效果,需对中药试验组与对照组进行抗炎平行实验,将 20 只雄性小鼠按体重大小,遵循均衡、随机原则分配到两组中。

2. 配对设计 配对设计是将受试对象按一定条件配成对子,再将每对中的两个受试对象随机分配到不同处理组。配对的因素为可能影响实验结果的主要非处理因素。例如欲研究维生素 E 缺乏时对肝中维生素 A 含量的影响,将同种属的大鼠按性别相同,月龄、体重相近配成对子,再将每对中的两只大鼠随机分配到不同处理组,分别喂以正常饲料和维生素 E 缺乏饲料。

3. 随机区组设计 随机区组设计又称配伍组设计,为配对设计的扩展,是将受试对象条件相同或相近者组成若干个区组,再将每个区组中的各受试对象随机分配到各处理组。每个区组中包含的受试对象数等于处理组数。随机区组设计可保证区组内的受试对象有较好的同质性,因此组间均衡性较好,与完全随机分组设计相比可以提高实验效率。如欲了解 3 种降压药物的降压效果,将 30 只高血压大鼠按性别相同、体重相近分配成 10 个区组,每个区组的 3 只大鼠随机接受 3 种药物的治疗。

五、实验设计的书写规范

书写实验设计时应注意:

- (1) 课题名称清晰规范,如“……对……的影响”“……与……的关系”。
- (2) 提出研究的假设,用简明的语言进行描述。
- (3) 阐明提出课题的理由。
- (4) 找出论点的论据和依据。
- (5) 提出较详细的设计方案,说明研究的步骤和方法。

第三节 中医实验记录的基本知识

实验记录是对科研活动的真实描述和记载,包括各种载体文字、图表、照片等。

一、实验记录的书写要求

(1) 实验原始记录须记载于正式实验记录本上,实验记录本应按页码装订;需有连续页码编号,不得缺页或挖补。

(2) 实验记录本首页一般作为目录页,可在实验开始后陆续填写,或在实验结束时统一填写。

(3) 每次实验须按年、月、日顺序在实验记录本相关页码右上角或左上角记录实验日期和时间,也可记录实验条件如天气、温度、湿度等。

(4) 字迹工整,采用规范的专业术语、计量单位及外文符号,英文缩写第一次出现时须注明全称及中文释名。使用蓝色或黑色钢笔、碳素笔记录,不得使用铅笔或易褪色的笔(如油笔等)记录。

(5) 实验记录需修改时,采用画线方式去掉原书写内容,但须保证仍可辨认,然后在修改处签字,避免随意涂抹或完全涂黑。空白处可标记“废”字或打叉。

(6) 实验记录中应如实记录实际所作的实验;实验结果、表格、图表和照片均应直接记录或订在实验记录本中,成为永久记录。

(7) 实验记录本应作为发表论文和实验室科技档案管理的必备文件。毕业生应在离校前将全部实验记录和其他科研资料上缴实验室保管和存档,不得随意处置或丢弃。

二、实验记录的具体内容

(1) 日期:包括年、月、日和时间,环境条件(如温度、湿度等)。

(2) 实验名称。

(3) 实验目的。

(4) 实验材料。

(5) 试剂:包括名称、批号、厂家、浓度、溶剂、保存条件。

(6) 仪器:包括名称、型号、供货厂商。

(7) 细胞/细菌:包括名称、复苏、冻存、保存处。

(8) 动物:包括品系、来源、年龄、性别、数量。

(9) 临床标本:包括姓名、性别、年龄、诊断及其他临床资料。

(10) 试剂的配制。

(11) 实验方法:详细描述实验步骤。

(12) 实验结果:包括所收集的原始数据、可视图及实验结果的整理。

(13) 出现的问题:应分析其可能的原因及解决方法,并详细记录于实验记录本上。

(14) 实验小结:对实验结果简短的总结和解释,将有助于指导后续的研究。包括主要结论、存在问题、改进方法和实验体会等。

三、实验记录的注意事项

(1) 实验记录不允许隔天记录以及于纸片。

(2) 保持实验记录的真实性和完整性,记录时间(年、月、日)。

(3) 原始数据(包括照片)必须贴在当天的实验结果栏里,不要保留在公共计算机里。

(4) 即便是阴性结果,也必须保留。不能仅记录符合主观想象的内容和自认为成功的实验结果。

(5) 定期整理、分析数据,并向指导老师汇报。

四、实验记录的不良习惯

实验数据的收集和记录贯穿科研活动全过程,是科学研究的原始资料,并为科学