

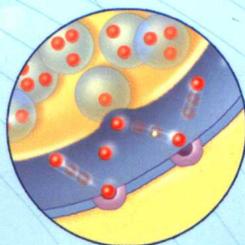
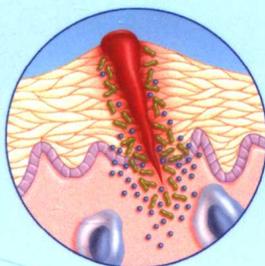
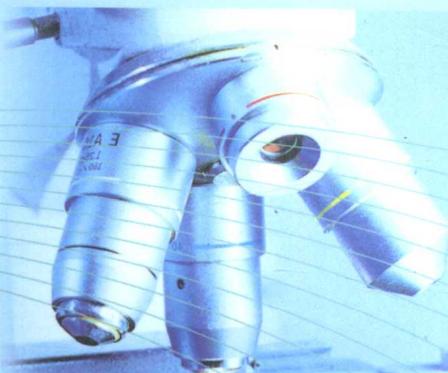
高等院校生命科学与技术实验教材



生理学 实验指导

SHENGLIXUE
SHIYAN ZHIDAO

魏 香 谢佐平 苏付荣 编著



清华大学出版社

高等院校生命科学与技术实验教材

生理学实验指导

魏 香 谢佐平 苏付荣 编著
李英姿 尹良宏

清华大学出版社
北京

版权所有,翻印必究。举报电话:010-62782989 13501256678 13801310933

图书在版编目(CIP)数据

生理学实验指导/魏香,谢佐平,苏付荣等编著.—北京:清华大学出版社,2005.8
(高等院校生命科学与技术实验教材)

ISBN 7-302-11040-9

I. 生… II. ①魏… ②谢… ③苏…等 III. 生理学—实验—医学院校—教学参考资料 IV. Q4-33
中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 050111 号

出版者:清华大学出版社 地址:北京清华大学学研大厦
<http://www.tup.com.cn> 邮编:100084
社总机:010-62770175 客户服务:010-62776969

责任编辑:罗健

印刷者:北京市通州大中印刷厂

装订者:北京国马印刷厂

发行者:新华书店总店北京发行所

开本:185×260 印张:10.25 字数:238千字

版次:2005年8月第1版 2005年8月第1次印刷

书号:ISBN 7-302-11040-9/Q·48

印数:1~4000

定价:19.00元

生理学是一门古老而又崭新的学科。早在公元前 300—前 400 年的《黄帝内经》一书中就已有对生理学知识的记载。1628 年英国医生 Harvey 所著的《心与血的运动》一书是历史上第一部记载明确实验证据的生理学著作,标志着生理学真正成为一门实验性科学。21 世纪是生命科学的世纪,基因组学、蛋白质组学的兴起与发展,使人们对生命科学的探索和认识进入了一个崭新的阶段;分子克隆、生物芯片、膜片钳等高新技术与设备相继涌现,生命科学研究水平不断提高。近二三十年来,随着基础科学和新技术的迅速发展,以及相关学科间的交叉渗透,生理学的研究也取得了突破性的进展。

生理学实验主要是在动物整体水平上进行研究,通过生理学实验课的教学,可以加强学生的生理学整体观念。清华大学生理教研室在积累多年实验、教学经验的基础上,编写了这本生理学实验指导。本书包括神经、肌肉、血液、循环、感觉、呼吸、消化、泌尿、代谢、生殖等组织或系统的主要生理过程和生理学指标的观察与检测,旨在通过生理学实验课的教学,使学生加深对生理学基本理论知识的理解,熟练掌握生理实验技能,学习先进生理学实验设备的使用方法,培养严谨的科学思维,增强合作精神,加强独立思考解决实际问题的能力。同时我们还增设了设计实验的训练,以期激发学生对科学研究的兴趣,培养学生的创新意识与主动学习的能力。

本书集传统的生理实验教材之精华,先进仪器设备的介绍与使用,多年积累的解剖、生理实验技术和经验于一体,本书可供高等院校生物和医药专业学生以及广大生理学爱好者使用。

在本教材的编写过程中,本教研室助教芮妍芳博士、刘万里博士、清华大学第二附属医院北京玉泉医院神经外科孙朝晖博士参与编写和提供了部分实验素材,在此表示衷心感谢。

由于编者水平所限,教材中难免有不妥之处,请各位同仁不吝赐教。

编 者

2005 年 5 月于北京清华园

目 录

第一章 总论	1
第一节 绪论.....	1
第二节 生理学实验常用的仪器及手术器械.....	3
第三节 生理学实验常用动物及基本操作技术	12
第二章 神经与肌肉	17
实验一 坐骨神经—腓肠肌标本的制备	17
实验二 坐骨神经—缝匠肌标本的制备	19
实验三 刺激强度对骨骼肌收缩反应的影响	21
实验四 骨骼肌单收缩的分析	23
实验五 骨骼肌收缩的总和与强直收缩	25
实验六 神经干复合动作电位的观察与记录	27
实验七 神经冲动传导速度的测定	30
实验八 神经干不应期的测定	32
实验九 骨骼肌纤维动作电位的测定	34
实验十 终板电位的测定	37
实验十一 强度-时间曲线与时值的测定	40
第三章 血液	43
实验十二 血容量的测定	43
实验十三 血涂片的制备及白细胞分类	44
实验十四 白细胞机能观察	47
实验十五 红细胞渗透脆性实验	48
实验十六 血型鉴定与交叉配血实验	50
实验十七 出血时间与凝血时间的测定	53
实验十八 血液凝固及其影响因素	55

第四章 循环系统	58
实验十九 在体蛙类心搏起点与传导阻滞	58
实验二十 蛙类心室的期前收缩与代偿间歇	60
实验二十一 离子和体液对离体蛙类心脏的影响	63
实验二十二 蛙类心脏的神经支配	67
实验二十三 蛙类微循环观察	69
实验二十四 家兔动脉血压的神经体液调节	70
实验二十五 家兔颈静脉窦减压反射测定	74
实验二十六 人体动脉血压的测定	75
实验二十七 人体心音听诊	78
第五章 呼吸系统	81
实验二十八 家兔呼吸运动的调节	81
实验二十九 家兔膈神经放电的观察	84
实验三十 人体呼吸运动的描记及其影响因素	86
实验三十一 人体肺通气功能的测定	88
第六章 消化系统	92
实验三十二 家兔离体小肠段平滑肌的生理特性	92
实验三十三 消化管的运动及其影响因素	94
实验三十四 胃液的分泌与调节	96
实验三十五 胰液和胆汁的分泌及其体液调节	98
第七章 代谢与泌尿系统	101
实验三十六 小白鼠能量代谢的测定	101
实验三十七 影响尿生成的因素	103
实验三十八 输尿管活动的观察与记录	106
第八章 中枢神经系统	110
实验三十九 反射时的测定与反射弧分析	110
实验四十 损坏小鼠小脑的观察	113
实验四十一 家兔大脑皮层运动区机能定位	116
实验四十二 去大脑僵直	119
实验四十三 大脑皮层诱发电位的引导	121
第九章 感觉器官	125
实验四十四 破坏蛙类一侧迷路后的效应	125

实验四十五 声音的传导途径·····	126
实验四十六 视觉调节反射及瞳孔对光反应·····	127
实验四十七 视力的测定·····	130
实验四十八 视野的测定·····	132
实验四十九 盲点的测定·····	134
第十章 内分泌与生殖系统·····	137
实验五十 甲状腺素对蝌蚪发育的影响·····	137
实验五十一 妊娠检查·····	139
实验五十二 离体子宫平滑肌的灌流·····	141
附录 ·····	144
附录 1 常用生理溶液的配制和用途·····	144
附录 2 常用实验动物的一般生理学特点及其应用·····	145
附录 3 生理学实验设计基本知识·····	149
附录 4 生理学实验应掌握的基本实验技能与技术·····	152
参考文献·····	153

第一章 总 论

第一节 绪 论

生理学是一门研究生物机体功能的学科。机体所表现的生命现象或生理作用及其规律都要通过实验或观察来揭示,也就是生理学实验是生理学理论知识的依据和来源。因此,在生理学的学科创立到发展的整个过程中,生理学实验发挥了重要作用。

一、生理学实验的目的

1. 掌握、熟悉或了解生理学实验的基本方法和基本操作技术。
2. 了解生理学实验设计的基本原则以及获得生理学知识的过程和科学方法。
3. 加深对生理学基本概念和基本理论的理解和巩固。
4. 培养对事物进行客观地观察、比较、分析和综合的能力,以及独立思考和解决实际问题的能力。
5. 培养创新意识、理论联系实际的能力以及对科学工作严肃、严格的态度和实事求是的工作作风。
6. 通过对实验结果的处理及实验报告的写作,提高分析、归纳问题及文字表达等方面的能力。

二、生理学实验课的要求

1. 实验课前

(1) 教师应通过备课、做预备实验来明确实验目的的要求,统一实验方法步骤、实验项目和实验内容,并做到实验操作熟练。

(2) 学生认真预习实验指导,了解实验目的、要求、实验步骤和注意事项。

(3) 查阅与本实验相关的理论文献,做到充分理解,以提高实验的主动性、目的性及实验效率。

(4) 预测实验中各个步骤应得的结果及可能出现的误差。

2. 实验课中

(1) 教师将要求学生掌握的实验方法与操作技术耐心细致地传授给学生。

(2) 鼓励学生与指导教师自由交换意见,引导学生的想象力及探索和创新意识。

(3) 学生应严格遵守生理学实验室的规章制度,不得进行与实验无关的活动。

(4) 实验用品摆放整齐,取用方便,充分发挥各种实验器材应有的作用。出现故障及时报告指导教师。随时清除实验污物,保持实验台面清洁。

(5) 按照实验指导中所列出的实验步骤,严肃认真地循序操作,不得随意改动。

(6) 分工合作,相互配合,积极参与各项实验操作,仔细观察实验现象,并随时做好记录。

(7) 节约实验材料及药品,爱护实验动物及标本,以保证每一实验动物能为实验作出应有的贡献。

(8) 未经允许不得擅自用他人或他组实验用品,公用物品不得擅自改变放置地点,用后及时恢复原状,以免影响他人使用。

(9) 请指导老师审查实验结果,如有错误及时补救。未经教师许可,不得擅自离开实验室。

3. 实验课后

(1) 将实验用具清洗干净,整理就绪。值日生做好实验室卫生工作。

(2) 实验动物及废弃物按要求统一处理,不得擅自处理,甚至随意丢弃。

(3) 整理实验数据,认真填写实验报告,按时送交指导教师批阅。

(4) 指导教师及时批改并讲解实验报告,如发现问题应及时指明。

三、实验结果的处理

实验中所得的结果可分为定性资料和定量数据两类,其表现形式主要有 3 种。

1. 记录系统记录的曲线。一般凡是有曲线描记的实验结果应尽量用原始曲线表示。实验结束后,应立即整理记录曲线。首先根据实验目的对全程记录进行全面的分析和对比,找出客观而又概括地反映实验结果的部分,将其附在实验报告上保存。每一实验曲线必须有足够的对照部分。曲线上必须附着文字说明,包括实验题目、实验对象、室温、日期、作者、合作者、刺激开始及终止的标志和时间记号等等,以便他人易于观察和辨识曲线的内在含义。

2. 表格或绘图。作表格时,一般将观察的项目或作用因素列在表内左侧(或上方),将所得结果按时间或数量变化的顺序写入右侧(或下方)。绘图时,一般以横坐标表示各种刺激条件或时间,纵坐标表示观察指标的变化。若有多组曲线,应作相应说明。图表还要有恰当的图表名称。

3. 文字叙述。要简明扼要,客观恰当。

四、实验报告的写作

1. 书写实验报告是生理学实验的基本训练之一,实验报告写作情况也是反映学生实验课成绩的一个重要组成部分,应认真严肃对待。

2. 书写实验报告应注意,语句通顺,文字清楚,表达简洁明了。同学间可相互讨论,但必须自己独立完成实验报告。

3. 实验报告的内容及要求。

一份完整的实验报告应包括以下几部分:

生理学实验报告

姓名 班次 组别 同组者 日期 室温

实验序号与题目

实验目的与要求

实验原理

实验对象

实验器材

实验用药品

实验方法与步骤

注意事项

实验结果

分析与讨论

实验结论

思考题

参考文献

在书写实验报告时,实验目的与要求、实验原理、实验对象、实验器材、实验用药品、实验方法与步骤、注意事项等部分可简要说明,切忌照抄实验指导或课件。实验结果是实验报告中非常重要的部分,可用前述3种表达结果的方式书写,其中图表要真实、准确,并做好清晰的图注,用文字描述时,应力求简洁,但同样要真实准确。分析与讨论也是一个很重要的环节,主要是根据自己已有知识,在经过认真独立思考的基础上,对实验结果进行科学的分析和解释,并判断是否正确,若出现未预期的结果,应分析其可能原因;或将实验中得到的规律性内容,经分析与思考,提出自己的见解,切勿盲目抄书或照抄他人。如参考课外读物,应注明出处。实验结论是对实验结果和讨论中所能验证的概念、理论、原则所做的判断和总结,应具有高度概括性,力求简明扼要,不要罗列具体实验结果,也不要将实验中未能得到充分证实的判断写入结论。思考题的回答要简明扼要,要紧扣问题的关键,切忌将与问题无关的理论或文字罗列其中。

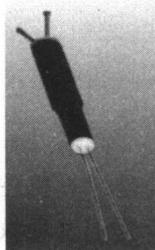
第二节 生理学实验常用的仪器及手术器械

一、刺激系统

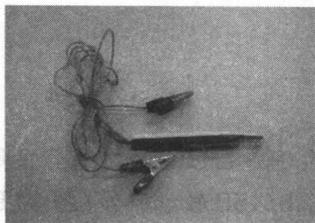
在生理学实验中经常使用的刺激方法是电刺激,其强度易于控制,能定量、定时,且重复刺激不易引起组织损伤,对神经和肌肉组织而言最接近于体内的自然刺激,可以重复使用。

1. 刺激电极

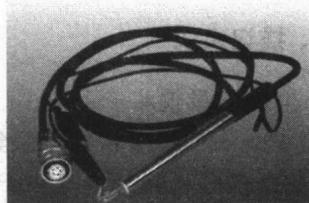
在生理学实验中,通过刺激电极可以对组织或器官施加刺激,并将组织器官产生的电变化引导出来,输入显示记录系统进行观察分析。刺激电极多用金属制成。根据其性能可分为普通电极、保护电极和乏极化电极等(图1)。



A



B



C

图1 刺激电极的主要类型

A. 普通电极; B. 保护电极; C. 乏极化电极

(1) 普通电极：用金属丝制成，一般用银丝、白金丝、不锈钢丝或钨丝，不宜用铜丝。将两条金属丝镶嵌在有机玻璃或硬塑料框套内，电极一端的金属丝裸露，用以接触实验组织以施加刺激；另一端通过导线与刺激器的输出端相连。

(2) 保护电极：将金属丝包埋在刺激端弯成钩状的绝缘框套内，仅保留钩内一面裸露，以便与组织接触施加刺激时，保护周围组织免受刺激。

(3) 乏极化电极：由于金属电极与生物组织接触后通以直流电来产生电极电位，因而从电极上测得的电位差是电极电位与生物电动势的叠加，这就干扰了生物电的测量。为了避免或减少电极电位的产生，电生理学实验通常选用乏极化电极，它是一种乏极化的锌-硫酸锌电极。目前更常用的乏极化电极是银-氯化银电极，这种电极的氯化银镀层可使银离子(Ag^+)和氯离子(Cl^-)在电极和电解质之间自由地移动，以对抗电极电流的形成。

制备银-氯化银电极的方法是：取银丝或银片，先用细砂纸擦光，然后用石油醚擦干净(注意：勿用手再接触银丝)，将两条银丝用导线与 1.5 V 的电池连接，并将两条银丝浸入 0.1 mol/L 的 HCl 溶液，呈暗灰色。由于氯化银具有感光性，因此，“氯化”的电极需在暗处保存，最好是将电极放入林格溶液中。

2. 锌铜弓(铜锌弓, Galvani 镊子)

锌铜弓是生理学实验中用来检验标本机能活性最常用而简易的刺激器(图 2)。由锌和铜两种金属片制成。因金属锌吸引电子的能力较金属铜弱，如果将锌和铜的一端接触，接触部位便有电流由铜流向锌。当锌铜弓接触表面湿润的组织时，电流便沿锌→可兴奋组织→铜方向流动，对组织施加刺激。因神经或肌肉的电刺激域值非常小，仅用锌铜弓接触即可构成刺激，因此生理学实验中常用锌铜弓来检验神经肌肉标本有无兴奋性。

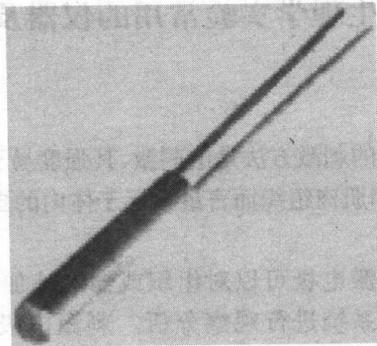


图 2 锌铜弓

二、描记系统

1. 生理记录仪

(1) PowerLab 生物信号采集系统：PowerLab 生物信号采集系统是计算机控制的新式信号记录和分析系统。其中 PowerLab/4SP 教学系统(图 3)是一套用于生理教学的完整套装，它包含 PowerLab/4SP 主机、基本连接线、Chart 和 Scope 软件(图 4)、生理学实验手册和手册中所有实验的设置文件，它能在 Windows 和 MS-DOS 下运行。加上合适的附件，这个系统就能完成基本的生理学实验。

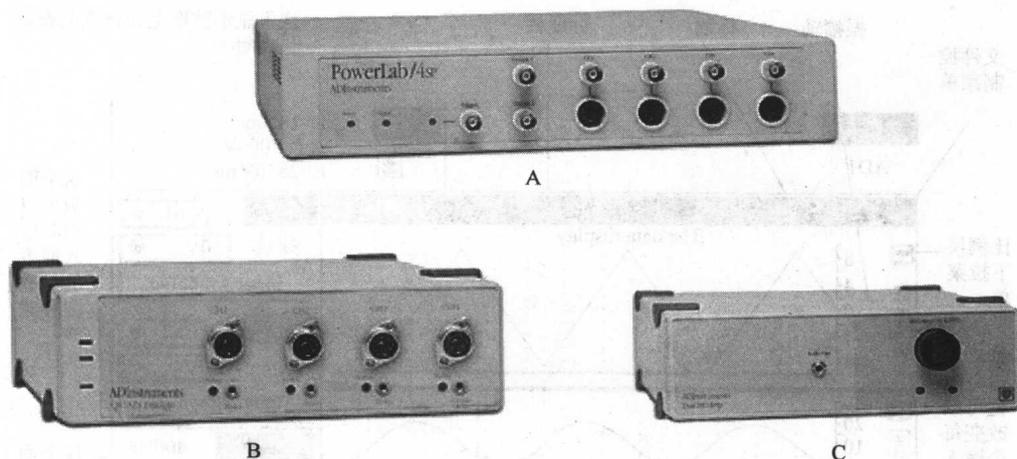


图3 PowerLab/4SP生物信号采集处理系统

A. 主机; B. 桥式放大器; C. 生物电放大器

该设备具有适应性好、使用简便、插图明显、数据精确可信等特点,学生可以自主地进行记录、显示和分析他们自己的生理学数据,加之适当的信号调节器和换能器便可以测量张力、位移、温度、呼吸等绝大多数生命科学中的参数。

PowerLab生物信号采集系统可应用于生理学、药理学和生物学等领域,在神经科学、肌电、体表心电、离体器官实验、细胞内外电生理记录等方面的研究工作中发挥着越来越重要的作用。该系统可对各种生物学信号进行放大和实时记录,并能对所记录信号进行进一步的计算与分析处理。

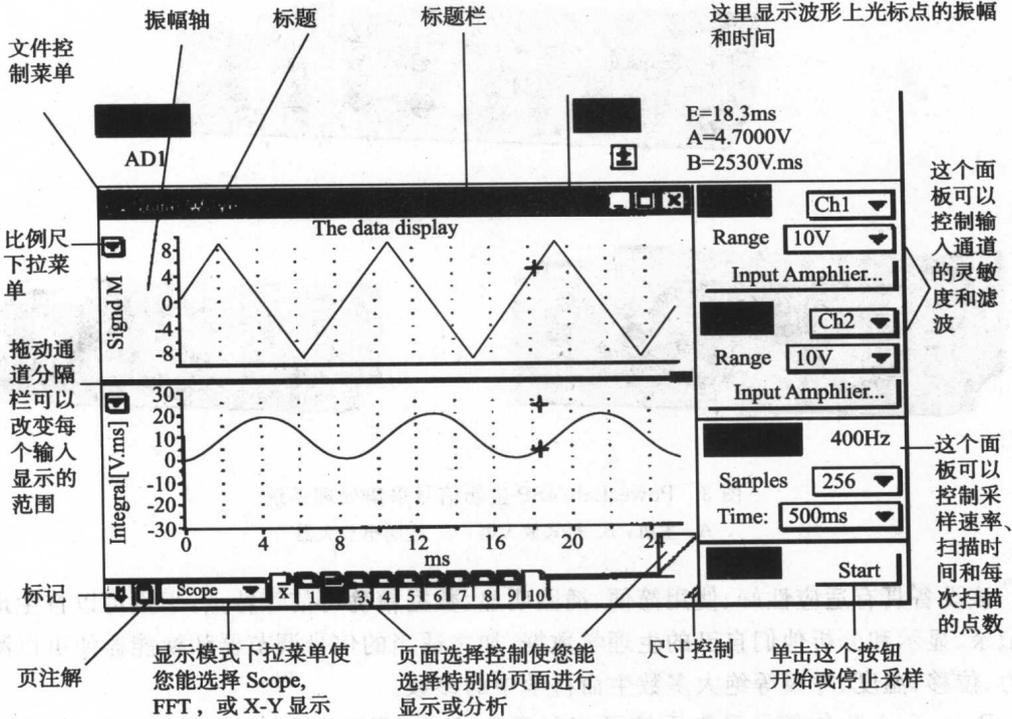
PowerLab生物信号采集系统的基本操作方法为:首先确定计算机、PowerLab主机、各种放大器、换能器均已准确连接,并已接通电源;然后打开各机器电源,注意先开PowerLab主机电源,再开计算机电源;用鼠标双击所选择的相应软件(Chart或Scope),系统即可启动。

① Scope程序的应用

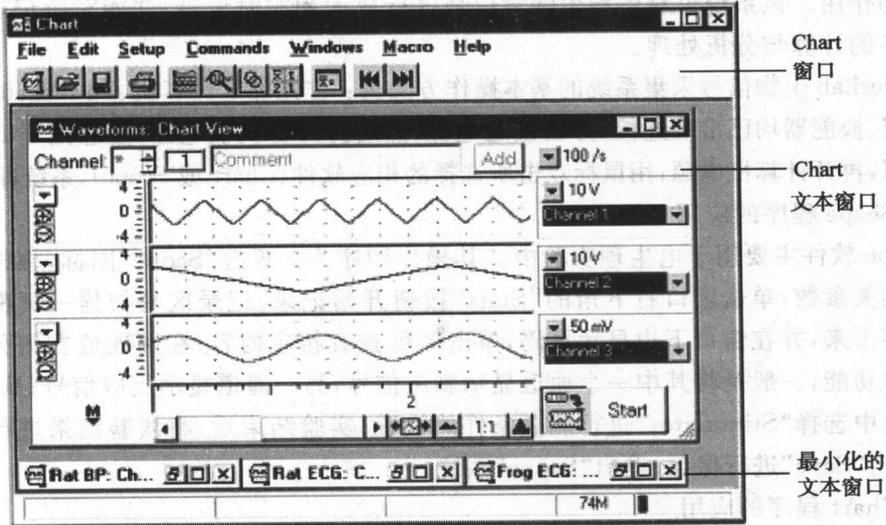
Scope软件主要用于电生理实验中。其操作顺序为:双击“Scope”图标,根据实验要求设置相关参数;单击窗口右下角的“Start”按钮开始记录,记录区每扫描一页都会将其内容保存下来,并在窗口下边显示页码,单击即可查看相应内容;在两通道右侧分别设置该通道的功能,一般是将其中一个通道显示刺激信号,另一通道显示反应信号;从“Setup”下拉菜单中选择“Stimulator”进行刺激条件的设置;实验结束后,将实验结果进行必要的整理,单击“Save”进行保存;退出“Scope”系统。

② Chart程序的应用

Chart软件可用于血压、呼吸、心率、心电、肌电、脑电等各种生理信号的记录。其基本使用方法为:双击“Chart”图标,单击窗口右下角的“Start”按钮开始记录,此时“Start”变为“Stop”;单击窗口右上方的速度下拉菜单,调节采样速度;在各通道右侧设置该通道的功能;在主窗口上方的注解栏内设置实验内容注解,并在需要时按下“Add”以对所做处理进行标记;实验完成后,单击“Stop”键;保存文件;退出“Chart”系统。



A



B

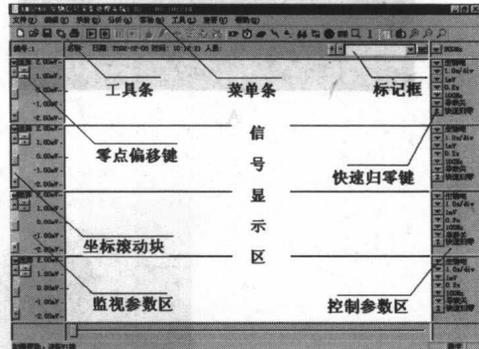
图 4 PowerLab 生物信号采集系统操作界面

A. Scope V3.6.3 窗口; B. Chart 4 应用程序窗口

(2) RM 6240 多道生理信号采集处理系统: RM 6240 生理信号采集处理系统(图 5)是采用大规模集成电路及计算机硬件和软件技术而开发的一种集生物信号的放大、采集、显示、处理、存储和分析的机电一体化仪器,功能强大,可用于生理学、病理学和药理学实验的生物信号检测、记录和分析。



A



B

图 5 RM 6240C 型生理实验系统及其应用窗口

A. RM 6240C 型生理实验系统; B. 应用窗口

RM 6240 生理信号采集处理系统的基本操作过程为:连通硬件设备的电源并开启;在计算机桌面上双击“RM 6240 生理信号采集处理系统 1.3 测试版”(或其他版本),进入实验软件界面;下拉菜单栏的“实验”,选择所要进行的实验内容;单击“示波”、“记录”快捷键,使软件进入示波并记录所示波形环境,此时,可在界面左侧对“零点偏移”、“坐标滚动”、“监视参数”等进行调节,右侧对各通道的参数进行调整,并可通过对界面右上方的标记栏的设置以对所要进行的实验项目做好标记;实验结束后,按“停止”快捷键,系统即进入分析状态,此时可对记录的波形进行各种测量、分析、编辑和打印等,如果所记录内容是非连续的,则每一段记录都以子文件形式存在同一文件中,以后在系统中可用计算机的“Page Up”和“Page Down”键查看其他内容。

2. 换能器

换能器主要有张力换能器(图 6A)、压力换能器(图 6B)与呼吸换能器(图 6C)。

(1) 张力换能器:主要用于测量肌肉张力和呼吸等生理信号,可将张力信号转换成电信号输入。可直接与 RM 6240 系列生理记录及分析处理系统以及 PowerLab 生物信号采集系统连接使用。量程可有 0~10 g, 0~30 g, 0~50 g, 0~100 g 不等。

(2) 压力换能器:主要用于测量动物的动脉和静脉血压。可直接与 RM 6240 系列生理记录及分析处理系统以及 PowerLab 生物信号采集系统连接使用。测量范围为 10~40 kPa。

(3) 呼吸换能器:用于测量动物或人体的呼吸波及呼吸流量。成都仪器厂研制的呼吸换能器主要有 HX 100、HX 101 型呼吸换能器和 HX 200 型呼吸流量换能器。其中 HX 100、HX 101 型呼吸换能器主要用于动物(HX 101 型)和人体(HX 100 型)呼吸波的测量。HX 200 型呼吸流量换能器可直接与 RM 6240 系列生理记录及分析处理系统连接使用,用于测量动物的呼吸波和呼吸流量,由呼吸流量头和差压换能器组成。最大输入压力为±12 kPa,量程有 0~±5 kPa, 0~±10 kPa 两种。

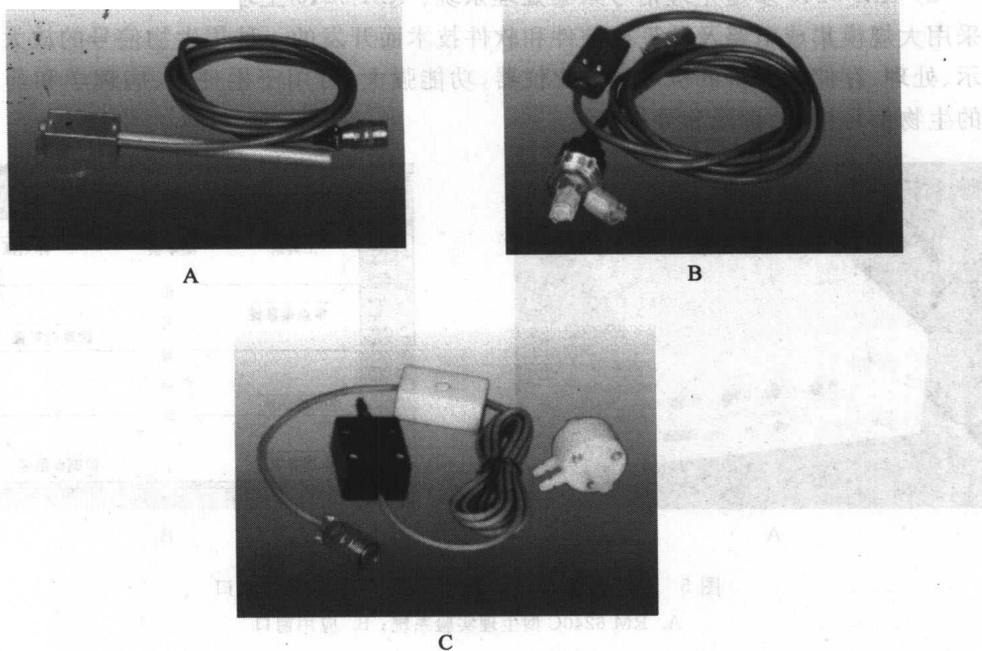


图6 换能器

A. 张力换能器; B. 压力换能器; C. 呼吸换能器

三、常用手术器械及其使用方法

生理学实验中常用的手术器械主要有：手术刀、手术剪、金冠剪、手术镊、眼科镊、玻璃分针等(如图7)。

1. 手术刀

主要用于切开皮肤和组织。常用手术刀包括刀柄和刀片两部分,手术刀片有圆、尖、弯刃及大小长短之分,根据手术部位与性质不同可更换不同的刀片。手术刀柄也有大小及长短之分。另一类手术刀的刀柄与刀片是连在一起的,也有圆刃、尖头手术刀及眼科手术刀之分。正常的执刀方法有4种。

(1) 持弓式：为最常用的执刀方式,灵活性大且动作范围广,可用于腹部、颈部及股部的皮肤切口。

(2) 执笔式：为操作精巧而轻柔的执刀方式,可用于短小而精确的切口切割。

(3) 握持式：常用于需用力且范围广的切口切割手术。

(4) 反挑式：一般在向上挑开组织时使用此法,可避免损伤深层组织或器官。

2. 手术剪

手术剪分尖头剪和钝头剪2种,尖端有直、弯之别,主要用于剪皮肤或肌肉等粗软组织,也可以用来分离组织。

3. 眼科剪

一种小型手术剪,主要用于血管或神经等柔软组织及较小创口的切割。有直头和弯

头 2 种。

4. 金冠剪

用于剪开皮肤、肌肉、骨骼等,尖端粗短,易于着力。

5. 手术镊

用于夹持或提起组织,便于剥离、剪断或缝合。分有齿和无齿 2 种,有齿镊主要用于夹持皮肤、肌腱等较坚韧或较厚的组织,无齿镊主要用于夹持血管、黏膜等较细软的组织。

6. 眼科镊

为较小型的手术镊,用于夹持较细软的组织。

7. 止血钳

用于钳夹血管或出血点,达到止血目的;也用于分离组织,牵引缝线。

8. 咬骨钳

在打开颅腔和骨髓腔时,用于咬切骨质。

9. 颅骨钻

用于开颅时钻孔。

10. 金属探针

专门用于破坏蛙类脑和脊髓的器械。

11. 玻璃分针

专门用于分离神经与血管等组织。

12. 蛙心夹

使用时,一端在心室舒张时夹住心尖,另一端借细线连于杠杆或换能器上,以进行心脏活动的描记。

13. 蛙板

约为 20 cm × 15 cm 的木板,用于固定蛙类,可用大头针将蛙腿固定在板上,以便于实验。

14. 气管插管

用于急性动物实验时插入气管,以保证呼吸通畅。

15. 动脉夹

于动脉插管或其他需短时阻断动脉血流时使用。

16. 肌夹

用于测定蟾蜍反射活动实验中将蟾蜍悬挂于铁支架上,分平头和尖头两种,以平头较常用。

17. 万能滑轮

用于生物信号引导方向的转换。

18. 计滴器

用于测定家兔尿生成量的装置,一段接收尿滴,另一端与信号采集系统相连。

19. 麦氏浴槽

用于测定消化系统生理特性实验。

20. 屏蔽盒

测定神经的生物电信号时,将神经标本放入屏蔽盒中,以减少外界磁场对标本信号的干扰。

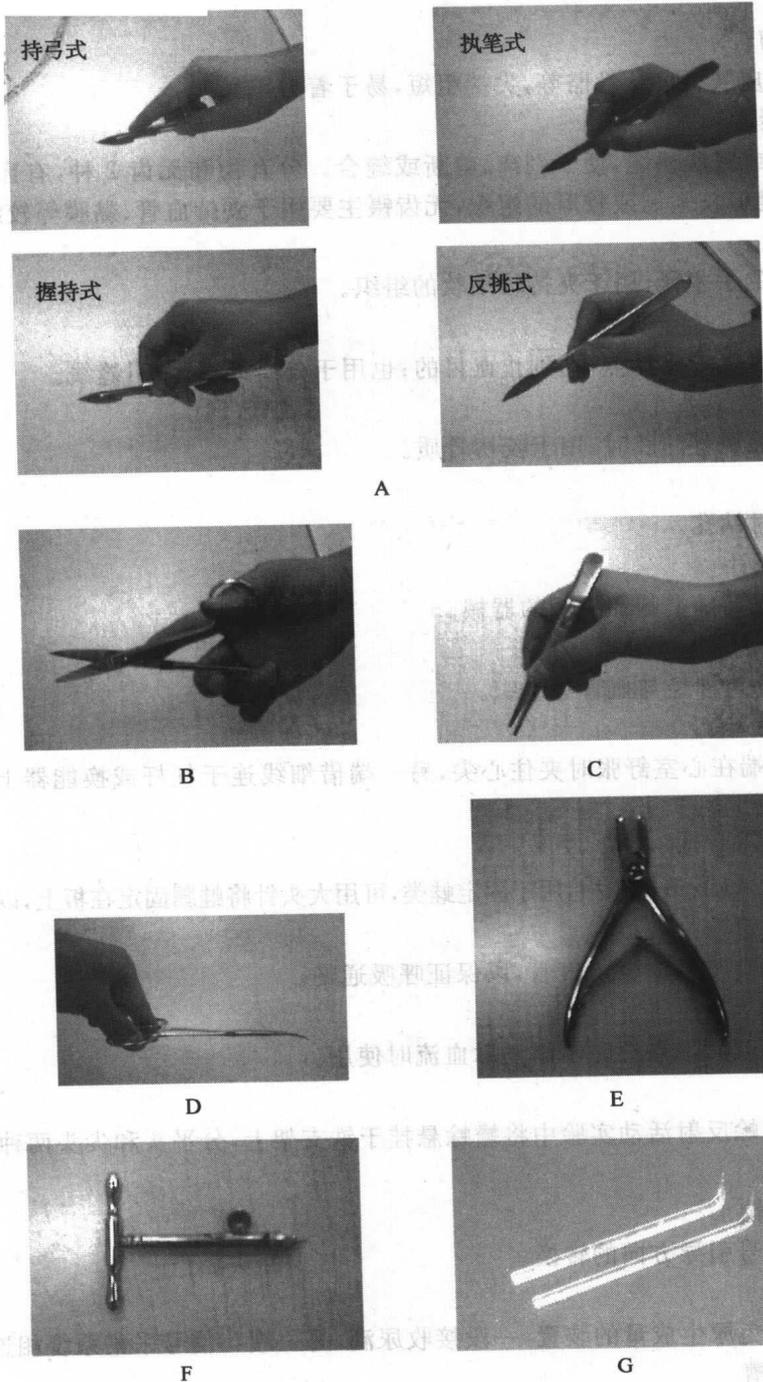


图7 常用手术器械及正确持握姿势

- A. 手术刀的正确持握姿势; B. 手术剪的正确持握姿势; C. 手术镊的正确持握姿势; D. 止血钳的正确持握姿势;
 E. 咬骨钳; F. 颅骨钻; G. 玻璃分针; H. 金属探针; I. 蛙心夹; J. 蛙板; K. 气管插管; L. 动脉夹;
 M. 计滴器; N. 麦氏浴槽; O. 万能滑轮; P. 肌夹; Q. 屏蔽盒; R. 引导线