

● 主编 肖丹秦

机能学实验

JINENGXUE SHIYAN

JIAOCHENG

教程

第 2 版



第四军医大学出版社

机能学实验教程

(第2版)

主 编 肖丹秦

副主编 朱娟霞 李新华 王 湘

编 者 (以姓氏笔画为序)

于 玮	王 倩	王 爽	王 湘
朱永香	朱娟霞	孙 娜	苏兴利
杜洪霞	李 萍	李新华	肖丹秦
南 瑛	侯 进	胥晓丽	徐 燕
郭玉芳	曹 健	曾菊绒	魏 明

图书在版编目(CIP)数据

机能学实验教程/肖丹秦主编.—2版.—西安:第四军医大学出版社,2012.8

ISBN 978-7-5662-0278-9

I. ①机… II. ①肖… III. ①机能(生物)-人体生理学-实验-教材 IV. ①R33-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第197897号

机能学实验教程

主 编 肖丹秦

责任编辑 朱德强 马元怡

出版发行 第四军医大学出版社

地 址 西安市长乐西路17号(邮编:710032)

电 话 029-84776765

传 真 029-84776764

网 址 <http://press.fmmu.sn.cn>

印 刷 西安力顺彩印有限责任公司

版 次 2012年8月第2版 2012年8月第2次印刷

开 本 787×1092 1/16

印 张 8.75

字 数 140千字

书 号 ISBN 978-7-5662-0278-9/R·1109

定 价 19.00元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

前 言

机能实验学是一门研究生物体正常机能、疾病发生机制和药物作用规律的实验性科学,是随着医学教育的改革,尤其是实验教学改革深入逐步建立起来的,它不但继承了生理学、药理学和病理生理学实验课程的核心内容,而且更加强调学科之间的交叉融合,注重新技术的应用及学生创新能力的培养。

近年来,国内各医学院校在实验教学改革方面进行了大胆的创新和实践,对传统的基础医学实验教学进行了系统的分析和深入研究,对原有的实验教学内容进行了分类、归纳、综合、修订和有机地融合与优化,形成了具有特色的基础医学实验教学体系。

机能实验学为学生提供了一个理论联系实际,大胆实践操作和积极思考的机会,使学生尽可能掌握基础医学实验的基本规律,为发挥创造性思维提供了一个思考和实践的空间。学习机能实验学,掌握医学实验的基本规律,训练医学实验的基本技能,培养科学的思维方法,对于一个医学生十分重要。这些基本知识、技能和素质,将成为学生学习后续课程、进行临床医学实践和医学科学研究的坚实基础。

肖丹秦

目 录

实验室学生守则	(1)
实验报告的书写	(2)
实验设计的基本知识	(3)
实验的统计处理原则	(10)
BL - 420 生物信号采集处理系统	(14)
实验一 实验仪器介绍、实验基本技能训练、模拟实验	(19)
实验二 哺乳动物(兔)麻醉、手术及处死方法	(27)
实验三 坐骨神经 - 腓肠肌标本的制备	(30)
实验四 前负荷和后负荷对肌肉收缩的影响	(33)
实验五 骨骼肌的单收缩和强直收缩	(36)
实验六 反射弧的分析	(39)
实验七 ABO 血型鉴定	(41)
实验八 血液凝固及其影响因素	(43)
实验九 红细胞沉降率的测定	(45)
实验十 蟾蜍心脏起搏点的分析	(47)
实验十一 人体动脉血压的测量	(50)
实验十二 人体心音听诊	(53)
实验十三 期前收缩和代偿间歇	(55)
实验十四 神经、体液及药物对家兔动脉血压的调节作用	(58)
实验十五 离子对心脏活动的影响、强心苷的作用	(62)
实验十六 家兔呼吸运动的调节	(65)
实验十七 家兔胃肠运动观察	(68)
实验十八 消化道平滑肌的生理特性及药物影响	(70)
实验十九 水杨酸钠二室模型和血浆半衰期的测定	(72)
实验二十 家兔尿生成调节与药物利尿、抗利尿作用	(75)

实验二十一	氢化可的松对小鼠耳郭毛细血管通透性的影响	(78)
实验二十二	胰岛素过量反应及其解救	(80)
实验二十三	烟碱的毒性作用	(81)
实验二十四	生理盲点的测定	(83)
实验二十五	家兔心外膜电图的记录、心肌不应期的测定及 室颤的诱发	(85)
实验二十六	药物对大鼠的利胆作用	(90)
实验二十七	利多卡因对哇巴因诱发心律失常的治疗作用	(92)
实验二十八	缺氧与耐缺氧	(95)
实验二十九	失血性休克及抗休克治疗	(98)
实验三十	急性右心功能衰竭	(101)
实验三十一	酸碱平衡讨论	(104)
参考文献		(106)
附录一	常用动物生理盐溶液的成分与配制	(107)
附录二	常用实验动物的部分生理常数	(108)
附录三	常用麻醉方法及注意事项	(109)
附录四	药物与处方的一般知识	(110)
附录五	机能实验学考核办法	(113)

实验室学生守则

一、上实验课时，应按要求穿好工作服，按时进入指定的实验室，不迟到、早退，室内禁止喧哗、打闹，不抽烟，不随地吐痰，不乱扔纸屑杂物，不随意动用室内设施。

二、实验前必须认真预习实验内容，仔细阅读实验指导书，明确实验目的、步骤、原理。

三、经指导教师同意后，方可动手实验。实验过程中必须仔细观察，积极思考，认真记录各种数据，不得抄袭他人实验结果。

四、必须严格遵守实验室的规章制度和操作规程，服从教师和实验技术人员的指导。

五、爱护仪器设备和室内设施，用前详细检查，用后整理就位，发现丢失或损坏应立即报告。节约药品试剂和材料，不允许将任何公物带出实验室。

六、实验时若出现意外事故，应及时切断电源、气源、水源，向教师报告，并保护好现场。

七、凡丢失、损坏实验设施及物件，应主动说明原因，写出书面报告和检查，并按《设备器材损坏丢失赔偿处理办法》酌情处理。

八、实验结束后，应清洁实验室环境，整理实验用具，经教师同意后，方可离开实验室。

(肖丹秦)

实验报告的书写

实验报告是对实验的总结，是表达实验结果的形式。实验报告的书写是一项重要的基本技能训练。

书写实验报告时，应注意内容准确真实，语言流畅，文字简练，书写整洁，外文缩写及度量单位准确、规范。

实验报告的一般格式应包括：

姓名 专业 班级 实验日期

实验题目

实验目的和原理

实验对象

实验用品

实验步骤

实验结果

实验结果分析

(肖丹秦)

实验设计的基本知识

一、实验设计的基本原则

由于生物学研究普遍存在的个体差异，要取得精确可靠的实验结论必须进行科学的实验设计，因此必须遵循以下基本原则。

(一) 重复

“重复”包括两方面的内容，即良好的重复稳定性（或称重现性）和足够的重复数，两者含意不同又紧密联系。有了足够的重复数才会取得较高的重现性，为了得到统计学所要求的水现性，必须选择相应的、适当的重复数。

统计学中的显著性检验规定的 $P < 0.05$ 及 $P < 0.01$ 反映了重现性的高低；“ P ”表示不能重现的概率。在已达到良好重现性的条件下，如果 P 值相同，重复数越多的实验，其价值越小。它说明实验误差波动太大，或是两药的均数相差太小。前者提示实验方法应予改进，后者提示两药药效的差别没有临床意义。可见，靠增加实验例数来提高重现性是有一定限度的。

1. 实验重复数的质量

除了重复数的数量问题外，还应重视重复数的质量问题。要尽量采用精密、准确的实验方法，以减少实验误差。同时应保证每次重复都是在同等情况下进行。即实验时间、地点、条件，动物品系、批次，药品厂商、批号，临床病情的构成比或动物病理模型的轻重分布应当相同。质量不高的重复，不仅浪费人力和物力，有时还会导致错误的结论。

2. 实验设计中的例数问题

实验结论的水现性与可靠性同实验例数有关，实验质量越高、误差越小，所需例数越少，但最少也不能少于“基本例数”。

实验动物的基本例数

(1) 小动物（小鼠、大鼠、鱼、蛙） 计量资料每组 10 例，计数资料每组 30 例。

(2) 中动物（兔、豚鼠） 计量资料每组 6 例，计数资料每组 20 例。

(3) 大动物（犬、猫、猴、羊） 计量计数资料每组 5 例，计数资料每组 10 例。

(二) 随机

“随机”指每个实验对象在接受处理（用药、化验、分组、抽样等）时，都有相等的机会，随机而定。随机可减轻主观因素的干扰，减少或避免偏性误差，是实验设计中的重要原则之一。随机抽样的方案有以下几种：

1. 单纯随机

所有个体（病人或动物）完全按随机原则（随机数字表或抽签）抽样分配。本法虽然做到绝对随机，但在例数不多时，往往难以保证各组中性别、年龄、病情轻重等的构成比基本一致，在药理实验中较少应用。

2. 均衡随机

又称分层随机。首先将易于控制且对实验影响较大的因素作为分层指标，人为地使各组在这些指标上达到均衡一致。再按随机原则将各个体分配到各组。使各组在性别、年龄、病情轻重等的构成比上基本一致。该法在药理学实验中常用，如先将同一批次动物（种属、年龄相同）按性别分为两大组，雌雄动物总数应当相同（雌雄各半）。每大组动物再分别按体重分笼，先从体重轻的笼中逐一抓取动物，按循环分组分别放入各组的笼中，待该体重动物分配完毕后，从体重次轻的笼中继续抓取动物分组，直至体重最重的笼中动物分配完毕。

3. 均衡顺序随机

该法主要用于临床或动物病理模型的抽样分组。即对病情、性别、年龄等重要因素进行均衡处理，其他次要因素则仅作记录，不作分组依据。先根据主要因素画一个分层表，然后根据病人就诊顺序依次按均衡的层次交替进行分组。例如准备将病情及性别加以均衡的临床试验分组情况见下表（病人总数 22 人），最后分组结果达到在病情及性别上的基本均衡（表 1）。

表 1 均衡顺序随机分组表

均衡层次	开始组别	按就诊顺序分层交替分为 A, B 组	共计 Total	
病重 男 (M)	A	1A, 2B, 3A, 4B, 5A, 6B, 11A, 13B	4	4
病重 女 (F)	B	7B, 15A, 16B, 17A, 18B	2	3
病轻 男 (M)	B	8B, 9A, 10B, 19A, 20B, 22A	3	3
病轻 女 (F)	A	12A, 14B, 21A	2	1

(三) 对照

“对照”是比较的基础，没有对照就没有比较，没有鉴别。对照组的类型很多，将在后面加以介绍。对照应符合“齐同可比”的原则，除了要研究的因素（如用药）外，对照组的其他一切条件应与给药组完全相同，才具有可比性。

1. 分组的类型

(1) 阴性对照组 即不含研究中处理因素（用药）的对照，应产生阴性结果。

①空白对照：不给任何处理的对照，多用于给药前后对比，两组对比时较为少用。

②假处理对照：经过除用药外的其他一切相同处理（麻醉、注射、手术等），所用注射液在 pH、渗透压、溶媒等均与用药组相同，可比性好，两组对比时常用。

③安慰剂对照：用于临床研究，采用外形、气味相同，但不含主药（改用乳糖或淀粉）的制剂作对照组药物，以排除病人心理因素的影响。

(2) 阳性对照组 采用已肯定疗效的药物作为对照，应产生阳性结果。如果没有阳性结果出现，说明实验方法有待改进。

①标准品对照：采用标准药物或典型药物作为对照，以提供对比标准，便于评定药物效价。

②弱阳性对照：采用疗效不够理想的传统疗法或老药作为对照，可代替安慰剂使用。

(3) 实验用药组

①不同剂量：可阐明量－效关系，证明疗效确由药物引起；还可避免因剂量选择不当而错误淘汰有价值的新药。一般采用 3～5 个剂量组，离体平滑肌实验组间剂量比为 10，整体脏器活动为 3.16 或 2，整体效应为 1.78

或 1.41。

②不同制剂：将提取的各种有效组分、不同提取部分或不同方式提取的产物，同时进行药效对比，以了解哪种最为有效。

③不同组合：用于分析药物间的相互作用，多采用正交设计法安排组合方式。

2. 对比的性质

(1) 自身对比 又称自体对比、前后对比，为同一个体用药前后、或身体左右侧用药的对比。可大幅度减少个体差异，但要注意前后两次机体状况是否有自然变异。

(2) 配对对比 采用同种、同窝、同性别、同体重的动物，一一配对。可减少实验误差，提高实验效率，但要注意不可滥用。

(3) 组间对比 药理实验中应用最广的对比。注意非用药因素要尽可能一致，以减少误差。下面几种对比是对比的特殊情况。

(4) 交叉对比 同一个体前后两次分别接受甲乙两药治疗。一组动物先用甲药，后用乙药，另一组动物先用乙药，后用甲药。两次用药期间可根据实验性质休息一定时间，以避免前药对后药的影响。动物实验或临床研究中均可应用，主要适用于病程较长的疾病或病理模型。

(5) 历史对比 利用个人既往经验、过去的病历记录或历史文献资料作为对比。可比性差，除癌症、狂犬病等难治疾病外，最好不用。

(6) 双盲对比 主要用于临床研究，可减少医师和病人两方面的心理因素影响。实验中病人和观察病情的医师都不知道谁是用药组，谁是对照组。只有主持研究者保留名单，以决定具体治疗措施和分析实验结果。为新药临床研究中必不可少的方法之一。

二、实验设计中的剂量问题

1. 安全剂量的探索

首先用小鼠作急性毒性实验，求出最大耐受量（或 LD₅₀）。然后按等效剂量的直接折算法计算出实验中所用动物的最大耐受量；取其 1/5 ~ 1/3 作为较安全的试用量。

2. 剂量递增方案

对于非致死性毒性反应较明显的药物，可先采用较小的剂量（例如

LD1 的 1/50) 作预试, 以策安全。试用后如未出现药效, 也无任何不良反应, 可将药物剂量递增。每次增幅由 100% 递减至 30% 左右, 直至出现明显药效或产生明显不良反应。具体方案见表 2。

表 2 剂量递增表

实验次数 (Experiment No)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
剂量倍数 (Dosage Times)	1	2	3.3	5	7	9	12	16	21	28	38	50

3. 不同种属动物间的剂量换算

对于文献中有在其他种属动物使用剂量的药物, 可通过剂量换算过渡到实验需用动物上来。以往常用的标准动物的等效剂量折算系数法, 简便适用, 但不宜用于体重不标准的动物 (表 3)。

表 3 不同种属标准体重动物整体 (只) 剂量折算倍数 K

动物种属	小鼠	大鼠	豚鼠	兔	猫	猴	犬	人
小鼠 mouse (20g)	1	7.0	12.25	27.8	29.7	64.0	124	388
大鼠 rat (200g)	0.14	1	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
豚鼠 cavy (400g)	0.08	0.57	1	2.25	2.4	5.2	9.2	31.5
兔 rabbit (1.5kg)	0.04	0.25	0.44	1	1.08	2.4	4.5	14.2
猫 cat (2.0kg)	0.03	0.23	0.41	0.92	1	2.2	4.1	13.0
猴 monkey (4.0kg)	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1	1.9	6.1
犬 dog (12kg)	0.008	0.06	0.10	0.22	0.23	0.52	1	3.1
人 human (70kg)	0.0025	0.018	0.031	0.07	0.078	0.16	0.32	1

整体动物剂量 (Dosage of a whole animal): $DB = DA \times KB/KA$

现介绍一种对任何体重动物都适用的“等效剂量直接折算法”: 后面的表列出了不同动物的千克体重剂量折算的有关系数和标准体重整体剂量折算倍数, 供计算时使用 (表 4)。

表 4 不同种属动物单位体重 (kg) 剂量折算系数

动物种属	小鼠	大鼠	豚鼠	兔	猫	猴	犬	人
剂量折算系数 K	1	0.71	0.62	0.37	0.30	0.32	0.21	0.11
动物体型系数 R	0.059	0.09	0.099	0.093	0.082	0.111	0.104	0.1
标准体重 (kg)	0.02	0.2	0.4	1.5	2	4	12	70

标准体重动物: $DB = DA \times KB/KA$

非标准体重动物： $DB = DA \times RB/RA \times (WA/WB)^{1/3}$

三、实验设计中的预试问题

在正式实验前应充分重视预实验的重要性，它可大大提高实验的效率，避免盲目性。通过预试应建立并改进实验方法、选择最佳实验对象、条件及指标。通过预试应对于干扰实验的因素有明确的了解。通过预试应尽可能提高实验的稳定性和灵敏性。

1. 实验的稳定性及其选择

实验稳定性通常可用同一样本重复实验结果的变异系数 CV 表示：

$$CV = SD/\bar{x}$$

实验变异系数小于 0.05 表示稳定性好，大于 0.2 则表示波动太大，需改进实验方法。实验中可利用 CV 的测定选择适当的动物模型。

2. 实验的灵敏性及其选择

用药剂量稍有变化，反应强度即出现明显差异，说明灵敏度较高。灵敏度可用因变系数 C. C. 表示：

$$C. C. = |(R1 - R2) / (\lg D1 - \lg D2)|$$

式中 R1、R2 为反应强度，D1、D2 为相应的药物剂量。

药理实验中可利用 CV 和 C. C. 的测定选择最佳的实验动物、实验脏器或实验条件。

3. 预试的任务及预试结果的意义

预试中应有计划地查明与保证正式实验成功有关的各种重要信息，如：动物品种、脏器类型、实验条件、实验方法、药物用量、观察指标等。用于预试所得数据是在逐步改进的过程中陆续收集的，时间差异较大，一般不宜将预试结果并入正式实验结果。

通过预备实验，可拟出实验记录的内容，以保证正式实验能有条理、按顺序进行，不致遗漏重要的观察项目，便于对结果进行统计分析。实验记录一般包括以下内容：

- (1) 实验标本的条件 如动物的种类、来源、体重、性别、编号等。
- (2) 实验药物的情况 如药物的来源、批号、剂型、浓度、剂量及给药途径等。
- (3) 实验的环境条件 如实验日期、时间、温度、湿度等。
- (4) 实验进度、步骤及方法的详细记录。

(5) 观察指标的变化情况 包括原始记录和相关描记图纸或照片。

(6) 资料整理、数据统计分析及其结果。

(7) 实验中存在的问题、改进措施, 需要进一步探讨的问题。

每次实验都必须随时记录, 每一阶段结束时, 都要对及时进行分析结果、整理数据, 并画出必要的统计图表, 作出结论, 写出报告。

(李 萍)

实验的统计处理原则

一、计量资料的统计分析

计量资料，又称量反应资料，是对每个观察对象测量某项指标的数值大小所得的资料，如动物的体重、血压、心率、尿量、平滑肌收缩幅度，等等；其内含的信息比计数资料丰富，是药效统计分析中最常用的资料类型。

1. 总则

- (1) 一般用 t 检验或方差分析法检验。
- (2) 应写出各组均值、标准差及例数。
- (3) 不用标准误，必要时可用 95% 可信限。

统计处理之前注意点：

- (1) 有无应舍数据 数据在 $\bar{X} \pm 3 SD$ 之外者可考虑舍弃。
- (2) 有无方差不齐 可用方差齐性检验，如两组的标准差相差一倍以上时，不必检验即可判断为方差不齐。
- (3) 有无明显偏态 可用正态性 D 检验，如均数两侧例数之差大于 $2 \times \sqrt{n}$ 时，不必检验即可判断为明显偏态。
- (4) 有无不定值 有 <10 、 >30 等不定值的资料时，不宜用均数作 t 检验，可改用中位数表达，作 Mann - Whitney 秩和检验，等级和检验，或序值法检验。
- (5) 有无时序关系 有用药前及用药后（包括各时间）的资料，应以各组用药前后的变化值或变化率进行两组 t 检验，不宜用用药后实测值进行检验。

2. 方法的选择

(1) 同批资料

$$\text{无明显偏态} \left\{ \begin{array}{l} \text{两组对比} \left\{ \begin{array}{l} \text{方差相齐——}t\text{ 值法} \\ \text{方差不齐——}t\text{ 值法} \end{array} \right. \\ \text{多组对比} \left\{ \begin{array}{l} \text{综合对比——方差分析} \\ \text{组间两两对比——}t\text{ 值法} \end{array} \right. \end{array} \right.$$

有明显偏态，或有不定值——秩和检验，序值法

注意事项：有配对关系的用药前后比较，只有在确知对照组用药前后实测值无明显变化时，采用配对 t 检验才有意义。一般仍然采用两组用药前后的变化值或变化率作组间 t 检验。

(2) 多批资料 一般仍然采用方差分析和 t 值法，必要时可采用析因 t 检验。

二、计数资料的统计分析

计数资料，又称质反应资料；这种资料中每个观察对象要先按类别、性质进行划分（如阳性、阴性，痊愈、未愈等），然后清点各区中观察对象的例数而获得数据资料。由于阳性率是对这类资料进行统计分析的最常用指标，也可称为“阳性率资料”。

1. 总则

(1) 一般用 χ^2 检验或 U 检验。

(2) 应写出各组例数、阳性例数及阳性率。

(3) 药效统计中样本均不很大，以用 χ^2 (2×2) 法为好。

统计处理之前注意点：

样本是否太小：如两组总例数少于 40 且其中有数据小于 5，或数据中有 0 或 1 时，应改用精确概率法。

有无配对关系：当每一对象接受两种处理（两个疗程或左右两侧用药），应改用配对 χ^2 检验。

有无等级关系：有等级关系的资料（如痊愈、显效、有效、无效，+++、++、+、-等），应采用等级序值法，或 Ridit 法检验。

2. 方法的选择

(1) 两率对比

$$\text{无配对关系} \left\{ \begin{array}{l} \text{样本较大——}\chi^2 (2 \times 2) \text{ 法} \\ \text{样本较小——精确概率法} \end{array} \right.$$