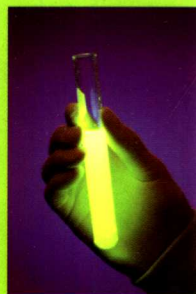


生理科学 实验教程

主 编 / 张连元 杨 林

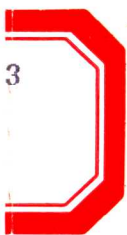


SHENGLI KEXUE
SHIYAN JIAOCHENG



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS



图书在版编目(CIP)数据

生理科学实验教程/张连元,杨 林主编. —北京:人民军医出版社,2004.1
ISBN 7-80157-344-7

I. 生… II. ①张… ②杨… III. 生理学—实验IV. Q4-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 048514 号

人民军医出版社出版

(北京市复兴路 22 号甲 3 号)

(邮政编码:100842 电话:68222916)

人民军医出版社激光照排中心排版

北京国马印刷厂印刷

腾达装订厂装订

新华书店总店北京发行所发行

*

开本:787×1092mm 1/16·印张:14 字数:328 千字

2004 年 1 月第 1 版 (北京)第 2 次印刷

印数:5201~8400 册 定价:24.00 元

(购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换)

前 言

随着医学科学技术的发展与进步,以及适应社会发展对高素质医学人才的需求,医学高等教育改革在不断地深化,国内很多医学高等院校的基础医学实验教学模式伴随着实验室建设的改革和发展正在发生着变革,生理科学(生理学、病理生理学、药理学)的实验教学改革也进行着各种尝试。为了适应实验教学改革的需要,我们编写了《生理科学实验教程》。该书主要作为高等医学院校本科生生理科学实验教学指导用书,生理学、病理生理学、药理学实验有分有合,力求体现综合性和探索性,并尽可能地符合新版教材的教学内容。希望通过实验教学使医学生能够掌握生理科学动物实验的基本操作技能,了解科学研究的基本思路与方法,提高其分析问题和解决问题的能力,以及培养医学生科学的逻辑思维能力和发明创造能力。为适应学科之间相互渗透,专业面明显拓宽的趋势,本书介绍了细胞、器官、系统等不同层次的实验内容,并介绍了有关医学科学研究方面的一些基本知识和基本技能,如:实验动物、科研设计及一些常用的较先进的研究方法。内容有简有繁,深入浅出。因此本书也可作为医学院校研究生和专科生等其他学历层次医学生的实验指导用书,以及青年教师和医务人员的科研参考书。

该书本身就是教学改革中的实验性产物,不当之处在所难免;鉴于编者的水平所限,难免出现谬误和纰漏,希望通过教学实践能够不断地得到改进和完善,诚恳地希望使用本书的同仁提出批评和建议。

张连元

2001年4月

目 录

第一章 绪论	(1)
第二章 动物实验基本知识	(3)
第一节 常用实验动物	(3)
一、实验动物的分类	(4)
(一)按遗传学分类	(4)
(二)按微生物学分类	(4)
二、实验动物的选择与应用	(5)
(一)实验动物的选择原则	(5)
(二)判定哺乳类动物健康状况的外部表征	(5)
(三)常用的实验动物	(6)
三、实验动物的饲养	(6)
第二节 动物实验的基本技能	(8)
一、动物的编号	(8)
二、实验动物的脱毛方法	(8)
三、实验动物的捉拿与固定	(9)
四、实验动物的给药方法与途径	(11)
(一)注射给药	(11)
(二)经口给药	(13)
五、动物与人用药剂量的换算	(14)
六、实验动物的麻醉	(15)
(一)常用麻醉药物	(15)
(二)麻醉方法与麻醉剂的用量	(16)
(三)使用麻醉药的注意事项	(18)
(四)麻醉过量的处理方法	(18)
七、实验动物的取血与处死	(18)
(一)取血方法	(18)
(二)处死方法	(20)
八、实验动物的生理生化指标	(21)
九、常用医学计量单位换算	(21)
第三节 人类疾病的动物模型	(22)
一、人类疾病动物模型的制备原则	(23)
二、常见人类疾病动物模型的制备	(23)

(一)肿瘤模型	(23)
(二)组织缺血再灌注损伤模型	(24)
(三)心血管系统疾病模型	(30)
(四)呼吸系统疾病模型	(31)
(五)消化系统疾病模型	(31)
(六)泌尿系统疾病模型	(33)
(七)神经系统疾病模型	(34)
第三章 实验研究操作技术	(36)
第一节 常用器械的使用	(36)
一、手术器械.....	(36)
二、注射器.....	(36)
三、听诊器.....	(37)
第二节 实验室常规仪器的配置	(37)
(一)换能器	(37)
(二)BL-410 生物功能实验信号采集、处理系统	(38)
(三)MS-302 微机化生理药理信号记录仪	(43)
(四)二道生理记录仪	(51)
(五)心电图机	(53)
(六)血气分析仪	(54)
(七)离心机转速与离心力的换算	(55)
第三节 常用动物实验技术	(55)
一、颈部手术.....	(55)
(一)颈总动脉的分离与插管	(56)
(二)颈外静脉的分离与插管	(56)
(三)气管插管术	(56)
(四)左心室导管插入术	(57)
(五)颈部神经的分离	(57)
二、胸腹部手术.....	(58)
(一)狗主动脉的分离及主动脉探头的安放	(58)
(二)肺动脉、冠状动脉的分离及冠状动脉探头的安放.....	(59)
(三)内脏大神经的分离方法	(59)
(四)肠造口术	(59)
(五)膀胱与输尿管插管	(60)
三、股部手术.....	(60)
(一)股动、静脉和股神经的分离方法.....	(60)
(二)股部外侧面坐骨神经分离方法	(61)
四、蛙后肢神经肌肉标本制作.....	(61)
(一)蛙坐骨神经腓肠肌标本的制备	(61)
(二)带神经的缝匠肌标本制备	(61)

五、大鼠离体心脏体外灌注	(62)
六、家兔离体肺体外灌注	(63)
第四章 实验常用溶液的配制	(64)
第一节 常用酸碱溶液的配制	(64)
一、酸溶液	(64)
二、碱溶液	(64)
第二节 常用缓冲溶液的配制	(65)
一、甘氨酸-HCl 缓冲液(0.05mol/L)	(65)
二、邻苯二甲酸氢钾-HCl 缓冲液(0.05mol/L)	(65)
三、柠檬酸盐缓冲液(0.05mol/L)	(65)
四、磷酸盐缓冲液(PB)	(66)
五、磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)	(66)
六、 KH_2PO_4 -NaOH 缓冲液(0.05mol/L)	(67)
七、Tris 缓冲液(TBS 和 THB)	(67)
第三节 常用生理盐溶液的配制	(68)
第四节 常用洗液的配置	(69)
一、重铬酸钾洗液	(69)
二、硝酸洗液	(69)
三、硫酸硝酸洗液	(69)
四、盐酸-乙醇洗液	(69)
五、盐酸洗液	(69)
六、碱性洗液	(70)
第五章 常用实验用具的消毒与灭菌	(71)
第一节 物理灭菌法	(71)
一、干热灭菌法	(71)
二、煮沸灭菌法	(71)
三、高压蒸气灭菌法	(71)
第二节 化学灭菌法	(72)
一、乙醇	(72)
二、碘酊	(72)
三、苯扎溴铵(新洁尔灭)	(72)
四、煤酚皂液	(72)
第六章 实验研究基本程序与报告和论文的撰写	(73)
第一节 实验研究基本程序	(73)
一、立题	(73)
二、实验设计	(74)
(一)实验设计的意义	(74)
(二)实验设计的基本要素	(74)
(三)实验设计的原则	(76)

(四)实验设计的原理	(79)
(五)控制误差和偏倚	(79)
三、常用的实验设计方法	(81)
(一)完全随机设计	(81)
(二)配对设计	(82)
(三)交叉设计	(83)
(四)配伍组设计	(83)
四、观察和记录	(84)
五、实验结果的处理、分析及判断	(84)
第二节 实验报告的书写	(85)
第三节 科研论文的撰写	(85)
一、科研论文的类型	(86)
二、科研论文撰写的基本要求	(86)
三、科研论文的写作步骤	(87)
四、科研论文的格式和内容	(87)
第四节 文献综述的撰写	(89)
一、文献综述的内容和形式	(89)
二、文献综述的写作步骤	(90)
三、撰写文献综述的注意事项	(91)
附表 1 两样本均数比较(t 检验)时所需样本含量	(92)
附表 2 两样本率比较时所需样本含量(单侧)	(93)
附表 3 两样本率比较时所需样本含量(双侧)	(94)
附表 4 随机排列表($n=20$)	(95)
附表 5 随机数字表	(96)
第七章 生理科学基础实验	(97)
实验一 刺激频率与骨骼肌收缩的关系	(97)
实验二 神经干动作电位的测定	(97)
实验三 神经干动作电位传导速度的测定	(98)
实验四 家兔高钾血症	(99)
实验五 酸碱平衡紊乱	(102)
实验六 家兔实验性肺水肿	(103)
实验七 缺氧及抢救	(104)
实验八 失血性休克及抢救	(107)
实验九 家兔肠缺血再灌注损伤	(109)
实验十 药物剂量对药物作用的影响	(110)
实验十一 给药途径对药物作用的影响	(110)
实验十二 药物半衰期测定	(111)
实验十三 半数有效量(ED_{50})的测定	(113)
实验十四 苯海拉明对组胺的竞争性拮抗作用及 PA_2 的测定	(115)

第八章 循环系统实验	(119)
实验一 期前收缩和代偿间歇.....	(119)
实验二 离体蛙心灌流.....	(120)
实验三 减压神经放电.....	(121)
实验四 心血管运动的神经体液调节.....	(122)
实验五 急性心力衰竭及强心苷的治疗作用.....	(123)
实验六 拟、抗肾上腺素药对家兔血管受体的影响	(126)
实验七 抗心律失常药实验方法简介.....	(128)
实验八 普萘洛尔对小鼠吸入氯仿诱发心律失常的预防作用.....	(129)
实验九 利多卡因对氯化钡诱发大鼠心律失常的防治作用.....	(129)
第九章 呼吸系统实验	(131)
实验一 膈神经放电.....	(131)
实验二 呼吸运动的调节.....	(132)
实验三 呼吸衰竭.....	(133)
第十章 消化系统实验	(134)
实验一 离体小肠平滑肌的生理特性和传出神经系统药物的作用.....	(134)
实验二 氨在肝性脑病发生中的作用.....	(135)
第十一章 泌尿系统实验	(137)
实验一 影响尿生成的因素.....	(137)
实验二 急性肾功能衰竭.....	(138)
第十二章 神经系统实验	(141)
实验一 反射弧的分析.....	(141)
实验二 大脑皮质功能定位.....	(141)
实验三 去大脑僵直.....	(142)
实验四 复方青礞石的抗惊厥作用.....	(143)
实验五 安定对抗回苏灵惊厥 ED_{50} 测定	(144)
实验六 镇痛药物实验.....	(144)
第十三章 自由基及抗氧化检测方法与技术	(147)
第一节 酶活性测定.....	(147)
一、超氧化物歧化酶(SOD)	(147)
二、过氧化氢酶(CAT)	(153)
三、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)	(154)
四、黄嘌呤氧化酶(XO).....	(155)
第二节 氧化还原性物质含量的测定.....	(156)
一、羟自由基($OH\cdot$)	(156)
二、过氧化氢(H_2O_2).....	(157)
三、丙二醛(MDA).....	(159)
四、谷胱甘肽	(161)
五、巯基(-SH)含量(蛋白巯基及非蛋白巯基)	(162)

六、细胞色素 C	(163)
七、血浆铜蓝蛋白	(164)
八、DNA 损伤产物	(164)
第十四章 细胞能量代谢检测方法与技术	(167)
第一节 线粒体的制备	(167)
一、设备仪器、试剂及缓冲液	(167)
二、制备过程	(168)
第二节 ATP 合成的测定	(170)
一、原理	(170)
二、试剂	(170)
三、测定步骤	(170)
四、结果	(171)
第三节 ATP 分解(ATP 酶)的测定	(171)
一、原理	(171)
二、试剂	(171)
三、测定步骤	(172)
四、注意事项	(172)
第四节 Na^+ 、 K^+ -ATP 酶和钙泵的活性测定	(172)
一、基本原理	(173)
二、操作步骤	(173)
三、酶制备	(174)
第十五章 细胞信号转导检测技术	(176)
第一节 细胞膜受体的分离与纯化	(176)
一、受体溶脱	(176)
二、受体纯化	(178)
三、受体分离纯化实例	(179)
第二节 受体蛋白含量测定	(180)
一、Folin-酚法(Lowry 法)	(180)
二、荧光法	(181)
第三节 第二信使系统	(182)
一、G 蛋白	(182)
二、磷脂酶 A	(182)
三、环核苷酸	(185)
四、三磷酸肌醇的检测	(191)
五、二酰甘油的检测	(192)
六、细胞内 pH 值的测定	(192)
七、一氧化氮及一氧化氮合酶的检测	(194)
第十六章 细胞凋亡检测技术	(200)
第一节 细胞凋亡的形态学检测方法	(200)

一、光学显微镜观察	(200)
二、电子显微镜观察	(201)
三、荧光显微镜观察	(201)
第二节 细胞凋亡的酶联免疫分析.....	(202)
一、原理	(202)
二、试剂	(202)
三、样品制备	(203)
四、方法	(204)
五、结果	(204)
六、注意事项	(204)
第三节 原位末端标记技术.....	(205)
一、原理	(205)
二、试剂	(205)
三、标本预处理	(206)
四、实验方法	(206)
五、注意事项	(207)
第四节 琼脂糖凝胶电泳定量检测技术	(207)
一、简易末端标记法	(207)
二、5'末端 ³² P标记法	(208)
参考文献.....	(209)

第一章 绪 论

生理科学是研究人体功能活动规律的科学。它包括生理学研究的正常人体功能活动规律;病理生理学研究的疾病状态下机体的功能活动规律和药理学研究的在药物作用下对人体正常或异常功能活动规律的影响等。《生理科学实验教程》正是根据上述三学科的基本理论和相应的实验内容编辑而成,目的是使学生通过实验课教学实践和自学有关知识,了解常用实验仪器的原理及使用方法,学会实验仪器整机连接与调试技术;掌握常用实验动物的选择和局部手术技术;掌握一些常见人类疾病动物模型的复制方法;了解常用实验溶液的配制方法;学会实验资料的收集、整理和数据处理,学会实验结果的分析及实验报告的书写。同时也了解一些科学研究的基本方法,培养医学生树立良好的科学作风和严谨的科学态度。本书尤其对生理学、病理生理学、药理学三学科间实验内容的相互联系进行了整理,以功能综合实验予以体现,以求提高学生综合分析能力及动手实践能力。

《生理科学实验教程》包括实验研究的基本知识和生理科学实验的基本内容。前者主要有生理科学实验常用动物的选择及局部手术;实验常用仪器及设备的原理和使用方法;生理科学实验设计与数据处理以及实验报告和科研论文的书写方法等。后者主要是生理科学三学科所要求掌握的主要实验内容以及为了训练学生的操作能力和培养学生的科研思路而补充的部分综合实验项目。此外,还选编了部分参考内容,如常用生理溶液的配制;实验动物和人用药剂量的换算;血液、尿液化学新旧单位换算和 mmHg(cmH₂O)及 kPa 换算等。为了拓宽知识面,适当增加了关于近代生理科学研究的基本方法。

生理科学实验课的实验方法分为急性实验和慢性实验。急性实验根据观察的目的又分为离体的组织、器官实验和整体动物实验两种。

一、急性实验

1. 离体实验 从活着或刚死去的动物体内取下欲观察的组织或器官,在人工创造的体外环境中,使之能够保持一定时间的生理功能,可以进行实验观察。例如,实验者想观察心肌本身的基本特性时,可摘取动物心脏进行体外灌流;当要观察神经本身的生物电活动时,就取动物的离体神经作为实验材料等。目前已可利用细胞分离和培养技术深入观察细胞各亚微结构的功能和细胞内物质分子的各种物理化学变化,以阐明生命活动的基本规律。这是今后从事科学研究常用的方法之一。离体实验可以随意地控制实验条件,排除其他因素的干扰,有针对性地观察某种条件对观察对象的影响。

2. 整体实验 在麻醉或毁坏动物大脑使其失去知觉的情况下,进行活体解剖,暴露所要观察的组织、器官进行实验。例如,当实验者观察迷走神经对心脏的作用时,可以用活体解剖方法暴露动物颈部迷走神经并开胸暴露心脏,用电刺激迷走神经,观察、记录心脏的活动。当

观察某些药物对肠平滑肌的作用时,可打开麻醉动物的腹腔,暴露肠管,把某些药物喷洒在肠管上,观察肠管的活动等情况。也可在动物体表连接电极或做各种管道的插管手术,以便记录各种生理指标或收集各种体液进行分析测定。

上述两种实验方法是生理科学实验常用的方法,由于实验过程不能持久,实验后动物往往不能存活,故称为急性实验。急性实验的优点在于实验条件比较简单,不需严格的无菌操作,不在实验范围内的许多其他条件一般均可被人工控制,并有可能对观察对象的某种功能进行直接的观察和细致的分析。但因其观察时间短和对整体功能不可避免的破坏,难以获取全面的资料 and 进行动态的观察研究。

二、慢性实验

慢性实验以完整、健康的动物为对象,在实验环境与自然环境基本相同的情况下进行实验,观察动物体内某一生理功能活动。在实验中,也应尽可能地保持动物机体内环境和外环境的稳定,以便单独观察某一项特殊条件下的功能活动。有时还须进行无菌外科手术,在保证动物能够较长时间存活的前提下,改变动物体内某些组织、器官的解剖结构,甚至把所要观察的器官露出体外或把所要观察的腺体导管导向体外,以便直接从动物体外进行观察。由于这种方法可以长时间进行实验,故称为慢性实验。例如巴甫洛夫在唾液分泌反射实验中预先用手术把动物的唾液腺导管开口移植到颊部皮肤,以便从外界直接收集分泌出来的唾液。在动物手术创伤恢复以后,可以研究在各种条件下完整清醒机体的唾液分泌规律。慢性实验可以长时间地动态地观察,便于全面、系统地对实验动物的功能、代谢活动进行综合研究分析。但因其所需时间较长,很少应用于学生实验教学。

每种实验方法都有其局限性。离体组织或器官实验难以观察完整机体内脏活动的规律,慢性实验难以研究某一脏器或某种组织的基本生理特性。因此,生理科学研究必须根据研究的目的和对象,选择合适的实验方法。

目前,由于医学电子学和生物信息技术的发展,遥控遥测技术和体表无创性检测诊断技术日臻完善,已有可能对动物和人体进行长时期在自然生活环境中的全天候实验观察,使生理科学的研究有了更大的发展。

第二章 动物实验基本知识

医学科学研究包括临床研究和动物实验研究。前者的研究手段主要是观察,而且是在不损害病人健康的前提下进行观察,这就限制了对患病机体的功能、代谢及组织形态结构变化进行深入、细致的研究。所谓动物实验就是在人为控制的条件下,向受试对象施加处理因素,并根据实验效应检验某种假说。由于实验是在人为控制的条件下进行,因此可以精心选择受试对象,设置各种对照,严格控制处理因素,排除干扰,从而可以进行单因素和多因素分析,使实验结果更能说明问题,更为可信。在探索医学科学规律时,实验的方法比单纯观察的方法更积极、主动和有效。动物实验研究较之临床研究有着如下独特的优点。

1. 可以严格地控制实验条件 动物实验使受试对象和实验进程都处于实验者的完全控制之下,如:实验者通过应用纯系动物,可获得大量均一的受试对象,排除因个体差异造成的实验结果的不均一性;可根据实验需要随机设置各种对照组;在病因学研究中使用无菌动物等。

2. 可以进行有害因素的研究观察 动物实验可以研究和观察各种有害因素对机体的影响,如毒物、病原生物、恶劣环境的致病作用;观察新试制药物的疗效、使用剂量、不良反应和远期效果;观察新手术方法的效果、问题、可行性及操作技巧等。

3. 可以大量的获取反映实验效应的样本 实验动物来源广泛、饲养容易、繁殖快、基因型明确,在动物实验中通过种种安排,可以最大限度地获取反映实验效应的样本。

由于上述的种种特点,使动物实验在医学科学研究中占有极其重要的地位,成为医学研究领域必不可少的手段,作为一个医学生和从事医务工作及医学研究的人员,必须了解和掌握动物实验的基本知识和技术。

第一节 常用实验动物

并非所有的实验动物都能应用于任何实验研究,实验动物的选择要根据实验的目的和要求确定。选择相应种属、品系与个体的动物,是实验研究的重要环节。每一项科学实验都有其最适宜的实验动物,如果实验动物选择不当,常使实验得不出正确的结论。不同种属动物的生理功能状态以及对药物和病因的反应不尽相同。如吗啡对神经系统的作用,在狗、兔、大鼠、猴等动物主要表现为中枢抑制,而在小鼠和猫则可能引起中枢兴奋;又如对恒温和变温动物的器官组织进行体外研究时,为维持其正常功能所需的条件是不同的。兔的心脏离体后的人工环境,必须保持一定的冠状动脉压力、适宜的温度、足够的氧气和较好的营养液;而蛙的心脏对这些要求都很低,只要人工营养液中 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 的比例及数值、渗透压近似于它的血液,即可进行实验。

一、实验动物的分类

(一)按遗传学分类

1. 近交系 连续全同胞兄妹交配 20 代以上,近交系数达 98.6% 以上,群体基因达到高度纯合和稳定的动物群称为近交系(表 2-1)。

表 2-1 常用的近交系小鼠和大鼠

动物名称		品系名称									
小鼠	C57BL	C3H	BALB/C	DBA/2	CBA	A	AKR	NZB	B10.D2	SJL	
大鼠	F344	LEW	BN	SHR	DA	PVG	WAG	AC1	WF	WKY	

2. 封闭群 封闭群是一个长期与外界隔离,雌雄个体之间能够随机交配的动物群。通常把 5 年以上不从外部引种,只在群体内进行随机交配的动物群称为封闭群。常用的封闭群动物有昆明小鼠、NIH 小鼠、ICR 小鼠、LACA 小鼠、Wistar 大鼠、SD(Sprague-Dawley)大鼠、Dunkin Harleg 豚鼠、青紫蓝兔、新西兰兔等。

3. 突变系 正常染色体的基因发生了突变,具有了各种遗传缺陷的品系。常用的突变系动物有:肌萎缩症小鼠、肥胖症小鼠、侏儒症小鼠、糖尿病小鼠、无胸腺裸鼠、新西兰高血压大鼠、米兰高血压大鼠、糖尿病大鼠、肥胖症大鼠、白内障大鼠等。

4. 系统杂交动物 两个不同近交系杂交所产生的第一代动物为系统杂交动物。系统杂交动物由于杂交优势,具有较强的生命力。该动物的遗传组成均等地来自母系和父系,因此系统杂交动物携带许多杂合位点,但其个体在遗传上是一致的。系统杂交动物若进一步交配繁殖杂交二代动物,则会出现遗传分离和基因重组,个体间的一致性就会消失。因此系统杂交动物不能进一步繁殖而保持其遗传组成不变。

5. 遗传工程品系

(1)转基因动物:以实验方法把外源基因导入动物染色体基因组内进行稳定整合并能表达基因产物和进行遗传的动物。

(2)嵌合体动物:将动物早期胚胎进行分割后与同种或异种胚胎细胞聚合后发育而成的动物。

(二)按微生物学分类

1. 普通动物 饲养在开放环境中,未经积极的微生物控制,不携带主要人畜共患病和动物烈性传染病病原体的动物称之为普通动物。普通动物是实验动物中在微生物控制上要求最低的动物,一般可用于实验教学中的急性动物实验,而不适于科学研究。

2. 清洁动物 是指除普通动物应排除的病原外,不携带对动物危害大和对科学研究干扰大的病原体动物。清洁动物比普通动物健康,在动物实验过程中可排除动物疾病的干扰,目前在一般的科学实验中被广泛的应用。

3. 无特定病原体动物 是指除上述两种动物应排除的病原外,不携带主要潜在感染或条件致病菌和对科学实验干扰大的病原体的实验动物。此种动物来源于无菌动物或剖宫产动物,饲养在屏障系统中,饲养环境和动物体内都不存在致病性的微生物和寄生虫,属于健康无病的动物。该动物质量高,适用于长期慢性实验,且实验结果相对可靠。

4. 无菌动物和悉生动物

(1) 无菌动物是指通过无菌剖腹产并在绝对屏障系统中饲养的动物,此种动物用现有检测技术手段能够证明不携带任何微生物和寄生虫。无菌动物是“干净”的个体,可有效地控制感染条件,在微生物学、寄生虫学、免疫学、肿瘤学、营养学、老年学、毒理和药理学、放射医学等方面的科学研究中能获得满意的结果。

(2) 悉生动物是指动物体内携带某种或某几种已知微生物或寄生虫并在屏障系统内饲养的动物。悉生动物来源于无菌动物,通过接种一种或几种微生物而获得,其饲养条件与无菌动物基本相同。

二、实验动物的选择与应用

如上所述,不同类型和内容的实验应选用适宜种属的动物。同一品系的实验动物由于存在着个体差异,对同一致病刺激物的反应也不同。因此,在选择动物时还应注意个体选择。急性实验选用成年动物,慢性实验最好选用年幼一些的动物。科学研究实验对动物的性别选择也有一定的要求。动物的特殊生理状态如妊娠、哺乳期,机体的反应性有很大变化,在个体选择时,应予以考虑。健康状况不好的动物,不能作实验用。

(一) 实验动物的选择原则

1. 近似性原则 某些实验动物在组织结构、生理功能、群体分布、年龄状态和疾病特征等方面与人类有一定程度的相似,如大型灵长类动物。或在某些组织、器官的结构和功能上与人类相近似,如狗的循环系统、神经系统和消化过程与人相似,猪的皮肤组织结构与人相似等。此外,在对某种疾病进行研究时,最好能找到与人类疾病相同的动物自发性疾病,或用动物复制的疾病模型尽可能近似人类疾病。

2. 差异性原则 各种动物之间在基因型、组织型、代谢型、易感性等方面存在差异。根据实验目的可选择具有特殊组织结构和生理功能的动物。如以呕吐为指标的实验研究一般选择狗和猫,而不用不易产生呕吐的草食动物如兔、豚鼠等。兔颈部的交感神经、迷走神经、减压神经是分别存在、独立走行的,在人、马、猪、狗、蛙等,减压神经并不单独走行,而是走行于交感干或迷走神经中。因此,观察减压神经对心脏的作用则必须选用兔。

3. 易化原则 从易化的角度入手,应选择那些既能满足实验要求,结构、功能又简单,便于观察和分析的动物。如用蛙进行神经反射弧实验,用果蝇进行遗传学研究等。

4. 相容和匹配原则 实验所用的动物品质应与实验设计、实验条件、实验技术、实验仪器、设备等方面的水平相匹配,避免资源的浪费。

5. 可获性原则 具有饲养容易,繁殖周期短,多胎性,遗传和微生物控制方便等特点的动物,如大鼠、小鼠、兔等哺乳动物是医学实验研究中常用的动物。

6. 重复性和均一性原则 在实验研究中应选用个体差异小,有很好的遗传均质性的动物,以保证实验结果的重复性和均一性。

(二) 判定哺乳类动物健康状况的外部表征

1. 一般状态 发育良好,眼睛有神,爱活动,反应灵活,食欲良好。

2. 头部 眼结膜不充血,眼、鼻部均无分泌物流出。呼吸均匀,无喘鸣音,无鼻翼扇动,不打喷嚏。

3. 皮毛 皮毛清洁柔软而有光泽,无脱毛,无蓬乱现象,皮肤无真菌感染表现。

4. 腹部 不膨大,肛门区清洁无稀便,无分泌物。

5. 外生殖器 无损伤,无脓痂,无分泌物。

6. 爪趾 无溃疡、无结痂。

(三)常用的实验动物

1. 狗 是较高等的动物,属哺乳纲、食肉目、狗科动物。有喜近人的特点,对熟人驯服温顺,但常攻击陌生人。其嗅、视、听觉非常灵敏。消化系统、循环系统、神经系统均发达,且与人类极为相似,适宜进行各类实验外科手术学的教学和临床科研工作。实验中一般选用 9~15kg 重的狗为宜。在医学研究领域是复制休克、DIC、动脉粥样硬化等动物模型首选的动物之一。

2. 家兔 属哺乳纲、啮齿目、兔科、草食类动物。有青紫蓝兔、中国白兔、新西兰白兔等品种。具有性情温顺、胆小、对温度感应敏锐的特点。适用的成年兔为 2.0~2.5kg,是医学实验教学中各类实验常选用的动物之一。

3. 大鼠 属哺乳纲、啮齿目、鼠科类动物。具有抗病能力强、繁殖快、性情凶猛、心血管反应敏锐等特征。成年大白鼠为 180~250g,在基础医学实验教学中,常用于水肿、休克、炎症、心功能不全、应激反应等各类实验。不适用于任何有关呕吐的实验研究和有关心电学的实验研究。

4. 小鼠 属哺乳纲、啮齿目、鼠科类动物。有繁殖周期短、温顺易捉、体型小、易于饲养等特性,是实验动物中培养品系最多的一类动物。成年小白鼠一般为 20~30g,广泛应用于各种药物的毒理实验、药物筛选实验、生物药效学实验、癌症研究实验、营养学实验、遗传学实验及免疫性疾病研究实验。

5. 豚鼠 属哺乳纲、啮齿目、豚鼠科类动物,又名天竺鼠、荷兰猪、海猪。习性温顺,喜群居,嗅觉、听觉发达,对某些病毒反应敏锐,易引起变态反应。成年豚鼠为 450~700g,适用于各类传染病、药理学、营养学,细菌、病毒诊断学,过敏、变态反应和内耳疾病等的实验研究。不适宜用于各类缺血性疾患的实验研究。豚鼠可复制典型急性肺水肿的动物模型。

6. 青蛙和蟾蜍 属两栖纲、无尾目类动物。其心脏离体后,仍可有节律地跳动,可应用于检验心功能的实验。蛙舌及肠系膜是观察炎症和微循环变化的良好标本。在水肿、肾功能不全的模型中常采用该类动物。

三、实验动物的饲养

实验动物一般由专门的机构进行饲养、繁殖和品种培育。需要有符合标准的硬件设施和专门的条件以及具有一定专业知识的饲养人员。学生的实验教学常为急性实验,所需动物由动物饲养中心提供。科学研究一般根据研究内容的需要选购适宜的动物,而不需自己饲养、繁殖,但购回的动物有时在实验前或实验中需要进行短期的饲养,特别是一些需要长时间观察的实验研究则需对动物进行较长时间的饲养。因此,研究者也应具有一般的动物饲养常识并要求具备一定的饲养动物的环境和条件。

动物的饲养环境和饲养质量关系到实验结果的重复性和可靠性。因此,具备一个良好的动物饲养环境,对于保障实验研究的准确性和科学性是至关重要的。动物饲养环境一般应有如下的条件。

1. 光照 光照可以影响动物的生理功能。对光照要求不严格的实验动物,一般采用自然

光照,动物生活在自然的昼夜更替环境中。在人工照明的条件下,工作照度应控制在 150~300lx,动物照度在 50~100lx,明暗交替时间为 12:12h 或 10:14h。

2 温度 在一定的温度范围内可保证哺乳动物的体温调节功能,以维持动物体温的恒定。不适宜的环境温度影响动物的生长、发育及繁殖。对温度要求的原则是保持波动范围尽量狭小的适宜温度。要求严格的一般控制在 22~24℃,中等要求的为 20~26℃,一般情况下温度在 18~29℃ 范围内,可满足大多数哺乳动物对温度的需求。

3. 湿度 空气的相对湿度,除对环境造成影响外,如高湿情况下有利于病原生物的生长繁殖,以及使饲料、垫料发霉,也关系到动物体温的调节,影响动物机体的代谢活动和抵抗力。动物饲养环境的相对湿度保持在 50%±5% 为最佳,一般可以保持在 40%~70%。

4. 换气 通风换气可以维持饲养室内适宜的温度和湿度,供给动物新鲜的空气,排除室内的污浊空气和粉尘。理想的风速是 13~18 cm/s,一般情况下允许的风速范围是 10~25 cm/s。

5. 噪声 一般将频率高、音压大、冲击性的声音称为噪声。噪声影响动物的生长、发育以及生理功能,严重时甚至导致动物的死亡。动物饲养环境的噪声一般应控制在 60dB 以下。

6. 笼具 实验动物的饲养一般采用圈养和笼养,但多数情况下采用笼养方式。笼养适用于体型较小的动物。家兔多采用水冲式的笼架,大鼠和小鼠一般用有铺垫物的笼盒。笼具的材料应无毒、耐腐蚀、耐高温、易清洗消毒。

7. 垫料 笼盒内常用的垫料为细刨花、锯末、玉米芯粉碎物等。垫料可提供动物舒适、保温、清洁的生活环境。垫料应具有良好的吸湿性,少灰尘、无异味、无毒性、无污染。严格要求者须经灭菌、消毒后使用。

8. 饲料 根据实验动物种类以及实验的目的选择适宜的营养配方和形状的动物饲料。饲料的形状分为颗粒饲料、膨化饲料、粉状饲料和糊状饲料。无论何种形状的饲料应具有适口性、易消化、无霉变、无菌虫,要有适当的硬度,稳定的营养和合适的含水量。一般实验动物繁殖供应机构都具有动物饲料加工设施。研究者可根据研究的需要及实验动物种类而选购或领取加工好的饲料,而不必自己制作。一般猫、狗适合饲喂膨化饲料,大鼠、小鼠、豚鼠及家兔适合饲喂颗粒饲料。大、小鼠颗粒饲料直径一般为 12mm 以上,豚鼠、家兔颗粒饲料直径为 3~4mm(表 2-2)。

表 2-2 常用实验动物的日摄食量、饮水量

动物种类	日摄食量	日饮水量
狗	250~1 200g (因品种不同而异)	25~35ml/kg 体重
兔	75~100g	80~100ml/kg 体重
大鼠	10~20g	20~45ml
小鼠	3~6g	3~7ml
豚鼠	20~35g (加维生素 C 添加剂)	12~15ml/100g 体重