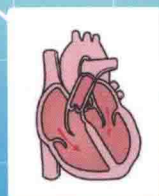
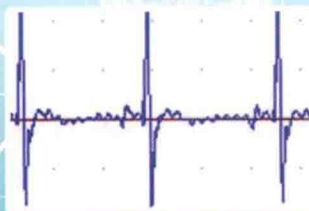
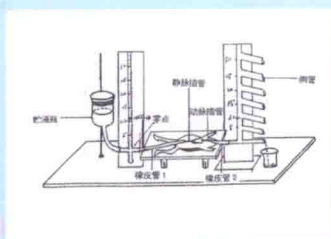
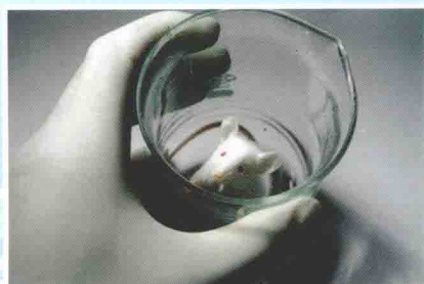


DNA

全国高等院校医学实验教学计划教材

医学机能学创新性、 探究性实验

主 编 汪晨净



科学出版社

全国高等院校医学实验教学规划教材

医学机能学创新性、探究性实验

主 编 汪晨净

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书共分三部分,第一部分为“医学机能学创新性实验”,按系统精选的多个创新性实验,供参与开放性实验项目的学生选择实施。第二部分为“医学机能学探究性实验”,主要包括扩展性和自行设计性实验,扩展性实验要求学生在已提供的基本实验平台条件下,自行完成从实验设计到实施的全过程。自行设计性实验要求学生在掌握了实验设计的基本原则及步骤的前提下,选择设计题目,并完成全部实验。第三部分为“病例讨论”,要求学生对具体临床病例的病理过程、临床表现及诊疗措施进行分析讨论,以提高学生解决临床实际问题的能力。

本书针对医学院校学生编写,具有较强实用性和选择性,可作为各高等医学院校各专业各层次学生的实验教材。

图书在版编目(CIP)数据

医学机能学创新性、探究性实验 / 汪晨净主编. —北京:科学出版社, 2015.6

全国高等院校医学实验教学计划教材

ISBN 978-7-03-045011-1

I. ①医… II. ①汪… III. ①实验医学-高等学校-教材 IV. ①R-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)和第 130145 号

责任编辑:朱 华 / 责任校对:包志虹

责任印制:徐晓晨 / 封面设计:范璧合

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>

北京教图印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015 年 6 月第 一 版 开本:787×1092

2015 年 6 月第一次印刷 印张:9

字数:205 000

定价:29.80 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

为适应高等医学院校教学改革的需要,我们医学院机能学教研室在学校的大力支持下,于2004年起将生理学、药理学和病理生理学三门课程的实验内容有机结合在一起,统一安排实验进程,形成独立、完整的“机能学实验”课程,达到资源共享的目的。

近年来,培养创新性医学本科毕业生已成为许多医学院校面临的新任务。尤其是理科实验教学改革,更是各学校密切关注的问题。我校医学院为适应当前创新性人才培养的新要求,投入了很大的力量。为学生开放实验室,鼓励学生开展创新性实验,以及在老师的指导下积极申报开放性实验项目及各级大学生创新性科研课题,以期培养学生的创新性思维,提高学生的科研素质。

为使学生能更好的开展创新性实验,我们在总结了十年来“基础医学机能学实验”课程实践的基础上,编写了《医学机能学创新性、探究性实验》教程。本教程共分三部分,第一部分为“医学机能学创新性实验”,按系统精选的多个创新性实验,供参与开放性实验项目的学生选择实施,以提高学生参与科研实验的积极性;第二部分为“医学机能学探究性实验”,主要包括扩展性和自行设计性实验。扩展性设计实验要求学生在已提供的基本实验平台条件下,自行完成从实验设计到实施的全过程。自行设计性实验要求学生在掌握了实验设计的基本原则及步骤的前提下,选择设计题目,并完成全部实验。探究性实验可充分启发学生的科研思维,调动学生开展科研实验的积极性,并可使学生掌握科研工作的基本过程,提高科研能力;第三部分为“病例讨论”,要求学生具体临床病例的病理过程、临床表现及诊疗措施进行分析讨论,以提高学生解决临床实际问题的能力。

本书针对医学院校学生编写,具有较强实用性和选择性,可作为各高等医学院校各专业各层次学生的实验教材,也可供有条件的中等医学专科学校选用。

由于编者水平有限,难免有不足之处,欢迎读者批评、指正,供今后修订时参考。

编者

2015年3月于西北民族大学医学院

目 录

第一部分 医学机能学创新性实验

第一章 神经、肌肉电生理实验	1
实验 1 高渗葡萄糖溶液对蛙坐骨神经干动作电位的影响	1
实验 2 温度对肌肉收缩的影响	4
第二章 血液系统实验	6
实验 1 止血药及抗凝血药的作用观察	6
实验 2 肝素对小鼠的抗凝血作用	7
第三章 神经系统实验	10
实验 1 压力感受性反射的调定点与窦神经发放神经冲动频率关系的实验研究	11
实验 2 氯丙嗪对小鼠激怒反应的影响	12
实验 3 M 胆碱受体亚型	13
第四章 循环系统实验	16
实验 1 表没食子儿茶素没食子酸酯抗小鼠心肌缺氧作用的实验研究	16
实验 2 芹菜素对血压影响的实验研究	18
实验 3 普萘洛尔对肾上腺素所致大鼠心动过速的治疗作用观察	20
实验 4 肾上腺素对大鼠血流动力学的影响	22
实验 5 被动吸烟对家兔心脏和血压的影响	23
实验 6 强心苷的强心作用和毒性作用的观察	25
实验 7 高浓度乙醇对失血性休克代偿作用的影响	26
实验 8 弥散性血管内凝血(DIC)家兔模型的复制及解救	29
实验 9 氨茶碱治疗充血性心力衰竭的实验研究	32
实验 10 影响心功能的因素和实验性心力衰竭的发生及治疗	35
第五章 呼吸系统实验	38
实验 1 家兔实验性肺水肿及呋塞米的疗效	38
实验 2 呼吸功能不全的实验研究	41
实验 3 年龄因素对缺氧耐受性的影响	43
第六章 消化系统实验	45
实验 1 丁酸和谷氨酸对小鼠胃肠运动影响的比较	45
实验 2 奥美拉唑对抗利舍平引起的胃溃疡作用观察	46
实验 3 M 胆碱受体激动药和阻断药对大鼠离体空肠的作用	48
第七章 泌尿系统实验	52
实验 1 影响尿生成的因素和肾缺血再灌注损伤	52
实验 2 肾脏对葡萄糖重吸收功能的测定	55
实验 3 肾肾反射	57
实验 4 肾血流量自身调节机制的探讨	58
实验 5 家兔急性肾小管坏死实验	61

第八章 内分泌系统实验	66
实验 1 胰岛素所致低血糖休克及药物和激素对血糖的影响	66
实验 2 苦瓜提取物对家兔血糖的影响	68
第九章 药物作用实验	70
实验 1 普鲁卡因的 LD ₅₀ 测定	70
实验 2 酚磺酞 (PSP) 药代动力学参数的测定	71
实验 3 泼尼松龙和阿司匹林的药效测定	73
实验 4 肝功能对药物作用的影响	75
实验 5 药酶诱导剂及抑制剂对戊巴比妥钠催眠作用的影响	76
实验 6 碱化尿液对水杨酸钠经肾排泄的影响	77
实验 7 缩血管及扩血管药物对局麻药麻醉时间的影响	79
实验 8 局麻药的麻醉作用及毒性比较	81
实验 9 镇静催眠药对中枢兴奋药的协同和对抗作用	82
实验 10 三种作用于传出神经系统的未知药物的初步辨别	84
实验 11 有机磷酸酯类中毒、解救及胆碱酯酶活性测定	86
实验 12 急性百草枯中毒及其解救	88

第二部分 医学机能学探究性实验

第一章 扩展性设计实验	90
实验 1 探究坐骨神经电阻、神经冲动传导速度及动作电位不应期影响因素的扩展性设计实验	90
实验 2 探究未知传出神经系统药物的扩展性设计试验	92
实验 3 探究氯丙嗪和乙酰水杨酸对体温的不同影响的扩展性设计实验	93
实验 4 探究血液凝固影响因素的扩展性设计实验	94
实验 5 探究离体心脏功能影响因素的扩展性设计实验	96
实验 6 探究心肌收缩能力影响因素的扩展性设计实验	98
实验 7 探究动脉血压影响因素的扩展性设计实验	100
实验 8 探究大鼠离体主动脉血管功能影响因素的扩展性设计实验	102
实验 9 基于家兔失血休克的扩展性设计实验	104
实验 10 基于家兔缺血-再灌注损伤的扩展性设计实验	105
实验 11 探究不同血糖及各类降糖药对心肌缺血-再灌注损伤影响的扩展性设计实验	108
实验 12 探究离体肠道平滑肌运动效应的影响因素及机制的扩展性设计实验	110
实验 13 探究尿生成影响因素的扩展性设计实验	111
实验 14 探究阿莫西林肾清除率影响因素的扩展性设计实验	113
实验 15 基于家兔为实验对象的多学科整合性扩展性设计实验	114
第二章 自行设计性实验	117

第三部分 病例讨论

参考文献	136
附录	137

第一部分 医学机能学 创新性实验

第一章 神经、肌肉电生理实验

实验 1 高渗葡萄糖溶液对蛙坐骨神经干动作电位的影响

【实验目的】

观察不同浓度的高渗葡萄糖溶液对蛙坐骨神经干动作电位的影响。

【实验原理】

根据文献报道,高渗葡萄糖溶液对神经干动作电位的幅值有明显的、可逆的、减小作用,对传导速度有减慢作用。一般认为高渗葡萄糖溶液的作用机制有两方面:一方面,高渗透压导致神经脱水,神经纤维脱水后,直径变小,电阻变大,从而导致其传导动作电位的机能下降,甚至出现神经传导阻滞。同时,由于神经细胞处于高渗状态下,细胞内外渗透压差异变小,水分从细胞外向细胞内转移,以致细胞内外离子浓度发生变化,细胞外钠离子浓度变小,细胞内钠离子浓度变大,细胞内外钠离子浓度差别减少,当神经细胞受刺激,产生冲动时,钠离子内流减少,而导致神经干动作电位幅值减小。另一方面,葡萄糖作为一种能源物质,进入细胞后,神经传导机能增强。不过由于葡萄糖作为一种大分子物质,不易通过细胞膜,被吸收量取决于细胞内外的离子浓度差及膜对它的通透性。本实验用电生理学方法,对高渗葡萄糖溶液影响蛙离体坐骨神经干的复合动作电位的幅度和速度进行观察,分析其影响动作电位的原理。

【实验对象】

青蛙或蟾蜍坐骨神经-腓神经标本。

【药品与器材】

任氏液、50%葡萄糖溶液、20%甘露醇注射液。

BL-420 生物机能信号系统、神经标本屏蔽盒、动作电位引导输入线、电刺激输出线、蛙类解剖手术器械(手术剪、手术镊子、玻璃解剖针、手术刀、粗剪刀、金属探针)、滤纸、丝线、棉线、滴管。

【实验方法与步骤】

1. 实验分组 分对照组及实验组。对照组分为对照 1 组:0.25mol/L 甘露醇溶液;对照 2 组:0.5mol/L 甘露醇溶液;对照 3 组:1mol/L 甘露醇溶液;对照 4 组:2mol/L 甘露醇溶液。实验组分为实验 1 组:0.25mol/L 葡萄糖溶液;实验 2 组:0.5mol/L 葡萄糖溶液;实验 3 组:1mol/L 葡萄糖溶液;实验 4 组:2mol/L 葡萄糖溶液。

2. 制备坐骨神经-腓神经标本

(1)破坏脑、脊髓：取青蛙一只，用自来水冲洗干净。左手握蛙、用示指下压头部前端，拇指按压背部，使头前俯。右手持探针由头端沿正中中线向尾端触划，触到凹陷处即枕骨大孔所在部位。将探针由此垂直刺入枕骨大孔、再将针折向前方插入颅腔并左右捣毁脑组织；然后将针退出至刺入点皮下，针尖倒向后方，通过椎管捣毁脊髓。待四肢肌肉松弛，呼吸消失，表示脑和脊髓完全破坏，否则按上法重新捣毁。

(2)去除躯干上部和内脏：在骶髂关节水平上 0.5~1cm 处剪断脊柱，左手握住脊柱下方断端，使头与内脏自然下垂，右手持粗剪刀，沿脊柱两侧剪除一切内脏及头胸部，留下后肢、骶骨、脊柱以及紧贴于脊柱两侧的坐骨神经。

(3)剥皮：左手握紧脊柱断端，右手捏住断端边缘皮肤，用力向下剥掉全部后肢的皮肤。把标本放在盛有任氏液(Ringer's solution)的烧杯中。洗净双手及用过的全部手术器械再进行下面步骤。

(4)分离两腿：用镊子夹住脊柱将标本提起，背面朝上，剪去向上突起的尾骨。然后沿正中中线用粗剪刀将脊柱和耻骨联合中央剪开分为两半(勿损伤神经)。将标本浸入盛有任氏液的培养皿内。

(5)制作坐骨神经-腓神经标本：取一腿放置蛙板中央，腹侧向上用蛙钉固定。用玻璃分针沿脊柱侧游离坐骨神经，并于近脊柱端用任氏液浸泡过的棉线结扎。再将标本背面朝上放置，剪去梨状肌及其附近的结缔组织。循坐骨神经沟找出坐骨神经大腿段，用玻璃分针小心剥离，然后从脊柱端将坐骨神经剪断，手持结扎线轻轻提起，剪断坐骨神经所有分支，游离神经至腘窝处。坐骨神经在腘窝上方分为胫神经和腓神经两支。在分叉下剪断内侧的胫神经。沿腓肠肌沟分离腓神经直至足部，用线结扎并剪断。也可剪断腓神经而分离胫神经，制备坐骨神经-胫神经标本。将制备好的神经标本浸泡在任氏液中数分钟，待其兴奋性稳定后开始实验。

3. 连接仪器 在 BL-420 生物机能信号系统刺激输出端口上连接一对刺激电极、刺激电极的正极连接神经干标本盒的 S1，负极连接 S2，地线接地。两对引导电极的正极分别连接在 R1 和 R3 上，负极分别连接在 R2 和 R4 上，引导电极的另一端分别连接在 BL-420 生物机能信号系统的 1、2 通道。打开计算机，启动 BL-420 生物机能信号实验系统。

【观察项目】

观察神经干双相动作电位幅度(A)、时程(t)。

(1)将分离好的神经干标本放置于神经标本屏蔽盒的电极上，启动刺激器，从零开始逐渐增加强度，仔细观察双相动作电位，适当调整刺激强度至最佳波形，并记录其正常状态下动作电位的幅值与时程。

(2)用脱脂棉球按实验分组用不同浓度的葡萄糖溶液或甘露醇溶液浸湿后置于神经干上，每隔 2min 记录一次动作电位，观察其幅值与时程的变化，直至动作电位不再变化时，取出脱脂棉球，用滤纸轻轻吸干神经干周围液体。注意不要移动神经干的位置。更换林格液脱脂棉球，观察动作电位直至动作电位回复正常。

¹注：两栖类动物器官所用的 Ringer's solution 称为任氏液，哺乳动物及人体静脉输注的称为林格液，各自的配方不同。

【结果记录及计算】

1. 记录电位幅值 在表 1-1-1 中记录各时间点测得的动作电位幅值(A)。

表 1-1-1 不同浓度高渗葡萄糖溶液对蛙坐骨神经干动作电位幅值的影响

		动作电位幅值 A (mV)							
		0min	2min	4min	6min	8min	10min	12min	…… n min
对照组	1 组								
	2 组								
	3 组								
	4 组								
实验组	1 组								
	2 组								
	3 组								
	4 组								

2. 记录电位时程 在表 1-1-2 中记录各时间点测得的动作电位时程(t)。

表 1-1-2 不同浓度高渗葡萄糖溶液对蛙坐骨神经干动作电位时程的影响

		时程 t (s)							
		0min	2min	4min	6min	8min	10min	12min	…… n min
对照组	1 组								
	2 组								
	3 组								
	4 组								
实验组	1 组								
	2 组								
	3 组								
	4 组								

3. 计算 按式(1-1-1)计算各组蛙坐骨神经干动作电位传导速度。

$$V = d/t(\text{m/s}) \tag{1-1-1}$$

注： d 为电极 R1 到 R2 的距离； t 为动作电位从 R1 传导到 R2 的时间，即为动作电位的时程。

【结果统计】

汇总全实验室结果，所得数据以均数 $\pm$ 标准差表示。所有数据均用 SPSS 10.0 统计学软件进行处理，组间差异比较采用 t 检验， $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

【预期结果】

(1) 高渗葡萄糖溶液由于渗透压作用和进入细胞后新陈代谢效应，相互拮抗，但由于渗透压的作用使神经干的幅度与传导减慢。三种浓度的葡萄糖溶液均可使动作电位幅度降低，传导速度减慢，在一定范围内，其效果与渗透压高低明显呈正相关。

(2) 甘露醇溶液作为对照组，仅仅由于渗透压作用，引起神经干的幅度与传导速率减

慢，作用效果随着渗透压的增加而增加。

【思考题】

高渗葡萄糖溶液对神经干动作电位有何影响？为什么？

实验2 温度对肌肉收缩的影响

【实验目的】

观察不同温度对接受连续刺激的腓肠肌收缩能力的影响。

【实验原理】

肌肉变暖使它对刺激的反应更快和更强。收缩期和舒张期都缩短，潜伏期也变短。降低肌肉温度产生相反的效果，收缩减弱以及所有的时相都延长。

【实验对象】

牛蛙坐骨神经-腓肠肌标本。

【药品与仪器】

任氏液(Ringer's solution)。

BL-420 生物机能信号系统、张力换能器、电刺激器、蛙类手术器械、小烧杯6个、大烧杯2个、酒精灯、温度计、粗棉线、纱布。

【实验方法与步骤】

1. 制备蛙坐骨神经-腓肠肌标本2个

(1) 破坏脑和脊髓：取牛蛙一只，用自来水冲洗干净。左手握住牛蛙，用食指压住头部前端，使头前俯，右手持探针从枕骨大孔垂直刺入，然后向前刺入颅腔，左右搅动捣毁脑组织；将探针抽出再由枕骨大孔向后刺入脊椎管捣毁脊髓。此时如牛蛙的四肢松软，呼吸消失，表示脑脊髓已完全破坏，否则应按上法再行捣毁。

(2) 剪除躯干上部及内脏：在骶髂关节水平以上0.5~1.0cm处剪断脊柱，左手握牛蛙后肢，用拇指压住骶骨，使牛蛙头与内脏自然下垂，右手持粗剪刀，沿两侧剪除其内脏及头胸部(注意勿损伤坐骨神经)，仅留下后肢、骶骨、脊柱及由它发出的坐骨神经。

(3) 剥皮：左手握脊柱断段(注意不要握住或接触神经)，右手捏住其上的皮肤边缘，向下剥掉全部后肢的皮肤，将标本放在盛有任氏液的培养皿中。

(4) 将手及用过的剪刀、镊子等全部手术器械洗净，再进行下述步骤。

(5) 分离两后肢：用镊子从背部夹住脊柱将标本提起，剪去向上突出的骶骨(注意勿损伤坐骨神经)，然后沿正中中线用剪刀将脊柱分开，并从耻骨联合中央剪开两侧后肢，这样两后肢即完全分离。将两条后肢浸于盛有任氏液的培养皿中。

(6) 制作坐骨神经腓肠肌标本：取一条后肢放于玻璃板上。

1) 游离坐骨神经：将标本背侧向上放置，把梨状肌及其附近的结缔组织剪断，再循坐骨神经沟(股二头肌及半膜肌之间的裂缝处)找出坐骨神经之后肢部分，用玻璃针小心剥离，在神经完全暴露后，然后用粗剪刀剪下与神经相连的脊柱，用镊子提起小块脊柱，用眼科剪剪断坐骨神经的所有分支，并将神经一直游离至膝关节处。

2) 完成坐骨神经小腿标本：将游离干净的坐骨神经搭于腓肠肌上，在膝关节周围剪掉全部大腿肌肉并用粗剪刀将股骨刮干净，然后在股骨中部剪去上段股骨，保留的部分就是

坐骨神经小腿标本。

3) 完成坐骨神经腓肠肌标本：将上述坐骨神经小腿标本在跟腱处穿线结扎后剪断跟腱。游离腓肠肌至膝关节处，然后沿膝关节将小腿其余部分全部剪掉，这样就制得一个具有附着在股骨上的腓肠肌并带有支配腓肠肌的坐骨神经的标本(图 1-1-1)。

2. 连接 将制备好的标本与张力换能器 BL-420 生物机能信号系统面板 1 通道连接好，刺激电极连接刺激输出。须避免连接错误或接触不良，注意地线的连接。并调节好标本高度，使之垂直处于拉直状态。

3. 开机测试 接好电源，打开电脑，进入 BL-420 生物机能信号系统生物信号显示与处理软件主界面，在菜单栏选择“实验项目-神经肌肉-神经干动作电位或动作电位传导速度、不应期测定”实验模块。可适当调节增益和扫描速度直至出现较理想的波形，并调节好刺激器的灵敏度。



图 1-1-1 坐骨-神经腓肠肌标本

【观察项目与结果记录】

(1) 用等于室温的任氏液湿润标本，防止干燥，观察室温刺激下标本的反应情况，描记肌肉收缩强度的曲线。

(2) 停止刺激 30 秒后，分别把肌肉浸泡于 10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃的任氏液的烧杯中，使肌肉温度有所改变，保持湿润，并分别用一种电刺激刺激标本，观察肌肉收缩的变化，并分别描记收缩强度的曲线。

(3) 比较六个不同温度下肌肉收缩持续时间及强度变化情况。

【预期结果】

肌肉收缩能力随温度升高先上升后下降。

【思考题】

影响肌肉收缩的因素有哪些？

第二章 血液系统实验

实验 1 止血药及抗凝血药的作用观察

【实验目的】

1. 掌握机体中凝血系统和纤溶系统的作用原理。
2. 观察和了解止血药及抗凝血药对血液的作用。

【实验原理】

在机体中表现为动态平衡的关系。当血管受伤，血液中的凝血因子被激活，启动凝血系统，进而止血。纤溶系统则是一系列酶催化的连锁反应，是正常人体的重要生理功能，其主要作用是清除凝血产物，将沉积在血管内外的纤维蛋白溶解而保持血管畅通，防止血栓形成或使已形成的血栓溶解，血流复通。凝血系统与血纤维蛋白溶解系统是共同存在于血液中的一种对立统一的重要机制。

目前，常用的促凝血药包括维生素 K、酚磺乙胺(止血敏)、氨甲苯酸、氨甲环酸及 6-氨基己酸等；常用的抗凝血药包括肝素、枸橼酸钠及华法林等。

【实验动物】

家兔。

【药品与器材】

3.84mg/ml 维生素 K₁ 注射液、20% 止血液注射液、20% 6-氨基己酸注射液、4% 枸橼酸钠、生理盐水。

玻片、2ml 注射器、针头、大头针、脱脂棉、乙醇、凡士林。

【实验方法与步骤】

1. 测定其正常凝血时间 取家兔 3 只，分别测定其正常凝血时间。

测定血凝时间，通常有毛细管法和针挑血滴法两种方法。本实验采用针挑血滴法。按照耳静脉采血的操作程序，滴取血液一滴于清洁玻片上，血滴直径约 0.5cm，旋转在有湿润棉花的平皿上，此系防止血液干燥(如空气相对湿度在 90%以上，可直接在室内进行)，每隔半分钟用大头针尖横过血液向上挑一次，直至针尖能挑起纤维蛋白丝为止，记录从血滴滴于玻片至能挑起纤维蛋白丝的时间(血凝时间)，连续做 3 次，取平均值。

2. 家兔处理 家兔分别注射下列药物。

(1) 甲兔：肌肉注射 10mg/ml 维生素 K₁ 注射液 1ml/只。

(2) 乙兔：静脉注射 20% 酚磺乙胺注射液 0.5ml/kg。

(3) 丙兔：为对照兔，静脉注射生理盐水 1ml/kg。

3. 给药后测定血凝时间 注射完毕后 10min，再测定血液凝固时间，以后每 10min 一次，共做 3 次，比较各种药物的促凝作用。

4. 抗血凝实验 前面实验完毕后，用丙兔从心脏采血 10ml，于下列 3 个试管中各放入

此血 1ml。

- (1)甲试管 内有 0.1ml 的 4%枸橼酸钠。
- (2)乙试管 内有 0.1ml 的 0.02%肝素注射液。
- (3)丙试管 内有 0.1ml 生理盐水。

血液放入试管中，摇动片刻，然后置于试管架上，20min 左右观察各试管血液有无凝固现象。

【结果记录】

- (1)在表 1-2-1 中记录甲、乙、丙三只家兔的血凝时间。

表 1-2-1 甲、乙、丙三只家兔的血凝时间

兔号	药物	血凝时间 (s)				
		给药前	给 药 后			
			10min	20min	30min	40min
甲	维生素 K ₁					
乙	酚磺乙胺					
丙	生理盐水					

- (2)在表 1-2-2 中记录甲、乙、丙三支试管血液凝固结果，并分析讨论。

表 1-2-2 甲、乙、丙三支试管血凝固结果

试管号	实验项目	结果	分析讨论
甲	0.1ml 的 4%枸橼酸钠		
乙	0.1ml 的 0.02%肝素注射液		
丙	0.1ml 生理盐水		

注：“+”表示凝固，“-”表示不凝固

【注意事项】

判断凝血的标准要力求一致。一般以倾斜试管达 45° 时，试管内血液不见流动为准。

【预期结果】

- (1)维生素 K、酚磺乙胺(止血敏)具有促凝作用。
- (2)肝素、枸橼酸钠具有体外抗凝作用。

【思考题】

- (1)联系课堂所学，讨论各种止血药，抗凝血药的作用特点？
- (2)为什么正常人体内的血液不会凝固？

实验 2 肝素对小鼠的抗凝血作用

【实验目的】

- (1)熟悉抗凝血药的筛选方法。
- (2)观察肝素的抗凝作用和鱼精蛋白的解救效果。

【实验原理】

肝素为硫酸化的糖胺聚糖,分子质量为3~30kDa,其中硫酸根约占40%,硫酸根呈强酸性,带大量负电荷。肝素能增强抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)与凝血酶等活化型凝血因子的亲和力,产生体内外抗凝作用,主要灭活Ⅱa和Xa,也灭活ⅨaⅪaⅫa 激肽释放酶和纤溶酶等。

鱼精蛋白呈碱性,带有大量正电荷,如果肝素过量造成出血,则可用硫酸鱼精蛋白中和解救。

【实验动物】

小鼠12只,20g左右,雌雄兼用。

【药品与器材】

0.05%肝素溶液、生理盐水、1%鱼精蛋白。注射器、电子秤、玻片、针头。

【实验方法与步骤】

1. 小鼠称重 小鼠12只 称重,标记。

2. 小鼠分组 分为3组,每组4只,分别为甲(生理盐水)、乙(肝素)和丙(肝素 + 鱼精蛋白)组。

3. 给药

(1)甲组:腹腔注射生理盐水 0.2ml/10g, 10min 后测定凝血时间。

(2)乙组:腹腔注射肝素 0.2ml/10 g, 10min 后测定凝血时间。

(3)丙组:腹腔注射鱼精蛋白 0.1ml/10 g; 10min 后腹腔注射肝素, 0.2ml/10 g, 10min 后测定凝血时间。

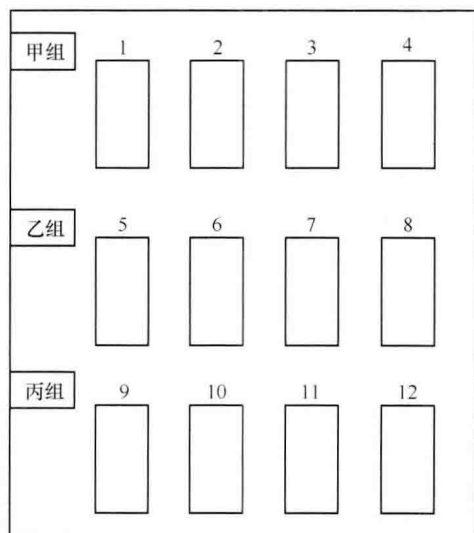


图 1-2-1 凝血时间测定

4. 测定凝血时间

(1)眼球后静脉丛取血2滴。眼球后静脉丛取血法:左手拇指及中指抓住头颈部皮肤,左手掌尽量将小鼠全身皮肤向左移,慢慢使小鼠右眼球突出,小鼠头向下充血。取长约2cm的毛细管从内眦间45°角进针,至有抵骨质的感觉,然后毛细管向外拔出1~2mm即可有血滴流出。

(2)采出的血滴分别置于洁净的玻片(自来水清洗后用生理盐水润洗,晾干)上,计时(玻片按组摆放如图1-2-1)。

(3)每隔30s用针头(自来水清洗后用生理盐水润洗)自血滴内连续挑起纤维丝为止,计时。另一滴血作为最后挑起纤维丝的对照。

(4)正常小鼠血液的凝血时间为0.5~2min,如果观察10min无凝血可计时为10min。

【结果记录】

在表1-2-3中记录各组小鼠血液凝固时间。

表 1-2-3 肝素对小鼠凝血时间的影响

组别	号数	体重(g)	给药体积(ml)	凝血时间 t(s)
甲组	1			
	2			
	3			
	4			
乙组	5			
	6			
	7			
	8			
丙组	9			
	10			
	11			
	12			

【结果统计】

汇总全实验室结果，所得数据以均数 $\pm$ 标准差表示。所有数据均用 SPSS 10.0 统计学软件进行处理，组间差异比较采用 t 检验， $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

【注意事项】

玻片法挑动血滴，针尖横贯血滴直径，连续能挑起纤维丝为凝血时间终点。如果过分挑动，变成纤维血滴则始终不出现纤维丝，所以同时放 2 滴血，核对另外一滴血很有必要。

【预期结果】

- (1) 肝素具有强大抗凝作用。
- (2) 鱼精蛋白可对抗肝素的抗凝作用。

【思考题】

肝素与香豆素类药物抗凝血作用特点有何区别？

第三章 神经系统实验

实验1 压力感受性反射的调定点与窦神经发放神经冲动频率关系的实验研究

【实验目的】

探究压力感受性反射的调定点与窦神经发放神经冲动频率的关系。

【实验原理】

(1) 压力感受性反射的感受装置是位于颈动脉窦和主动脉弓血管外膜下的感觉神经末梢，称为动脉压力感受器。颈动脉窦压力感受器的传入神经组成颈动脉窦神经，将冲动传入位于延髓的中枢。主动脉弓的传入神经纤维走行于迷走神经干内，将冲动传入延髓内的中枢。

(2) 压力感受器感受血压牵拉血管壁引起的牵张刺激，并产生持续的神经冲动，神经冲动的频率随牵张刺激的加强而增大。即在血管壁弹性不变的情况下，血压越高，对血管壁的牵张程度越大，压力感受器产生神经冲动的频率越大。

(3) 根据压力感受性反射对动脉血压的调节来设定一定的调定点，作为调节动脉血压的参照水平，此调定点的数值也是短期内动脉血压的平均值。当压力感受器感受到的血压值高于或低于此调定点时，中枢即通过一系列措施产生降压或升压效应，使动脉血压尽量回归到此值。所以，短期内动脉血压会在调定点水平发生小幅度上下波动，平均值等于调定点。

(4) 调定点的测定：在动物实验中可将颈动脉窦区和循环系统其余部分隔离开来，但保留它通过窦神经与中枢的联系，在这样的制备中，人为地改变颈动脉窦区的灌注压，就可以引起体循环动脉压的变化，并画出压力感受性反射功能曲线。

(5) 在心血管系统发生功能性障碍时(如慢性高血压患者)，压力感受性反射的调定点将发生改变，即重新调定。

(6) 四乙胺为 K^+ 阻断剂，其可抑制动作电位复极化期间 K^+ 的外流，从而延长动作电位时程，减小动作电位发生的频率，用其处理窦神经，将使窦神经在同一动脉压刺激下产生的神经冲动频率减小。

【实验动物】

家兔。

【药品与器材】

25%氨基甲酸乙酯、0.5%肝素、四乙胺、生理盐水。

BL-420 生物机能信号系统、引导电极、兔手术台、注射器、哺乳类动物手术器械一套、血压换能器、三通阀、灌注实验装置。

【实验方法与步骤】

1. **仪器连接** 减压神经放电通过引导电极连接 BL-420 系统面板 1 通道(CH1)插孔, 颈总动脉插管通过三通阀与血压换能器相连, 血压换能器连至主机 BL-420 系统面板 2 通道(CH2)插孔。

2. **开启 BL-420 生物机能信号系统** 选择 1 通道记录窦神经放电, 2 通道记录动脉血压, 3 通道记录窦神经放电频率计数直方图式积分。

3. 参数设定

(1) 依次选定: 实验模块→减压神经放电→动物实验→不需调整→增益选择→1 通道。

(2) 选择: 1/128mV/cm。

(3) 依次选定: 信号输入→通道 2 选择→压力→自动调零→增益选择→通道 2 选择→1mV/cm。

(4) 依次选定: 参数设置→显示方式→连续示波(1 通道选 50 Hz 滤波, 2 通道选平滑滤波)。

(5) 依次选定: 显速选择→500mm/s。

4. **麻醉** 耳缘静脉缓慢注入 25%氨基甲酸乙酯 4ml/kg 体重, 密切观察角膜反射、肌张力及呼吸频率变化, 以免麻醉致死。

5. **固定** 将麻醉好的家兔仰卧固定于家兔手术台上。

6. **手术** 剪去家兔颈部手术野的毛, 于喉下正中部位切开皮肤 6~9cm, 用止血钳钝性分离皮下组织和肌肉, 暴露气管及两侧颈总动脉, 分离出两侧减压神经并剪断, 于右侧颈动脉窦上下 1cm 处结扎, 分离左侧窦神经并剪断, 分离右侧颈动脉窦及其所连窦神经, 保持其与中枢的联系。

7. **插管** 左侧颈总动脉插管, 连于三通阀。右侧在两结扎线之间(尽量远离颈动脉窦)做插管, 连于灌注实验装置。

8. **右侧窦神经放电引导** 将颈动脉窦连于灌流装置, 并用电极记录窦神经放电图。

9. **调节灌流瓶的高度, 改变窦内压** 观察动脉血压的变化及神经放电图, 记录每次窦内压对应的放电频率与动脉血压(记为对照组), 并绘出压力感受性反射功能曲线, 求出其调定点(P_0)和调定点对应的灌流压的放电频率 X 。

10. **将窦神经用适量四乙胺处理** 从而改变其放电频率, 再重复上述步骤 9, 仍然求出调定点及调定点对应的灌流压的放电频率 X , 再比较两次的结果, 并分析得出结论。

【观察项目】

(1) 每个窦内压所对应的动脉血压, 绘出压力感受性反射功能曲线(在该曲线中作一条 $Y=X$ 的直线, 其经过曲线上一点 S , 此点横纵坐标相等, 其对应的血压即为调定点(P_0)(图 1-3-1)。

(2) 每个窦内压所对应的放电频率。

【结果记录】

在表 1-3-1 中记录对照组及实验组每个窦内压所对应的放电频率。