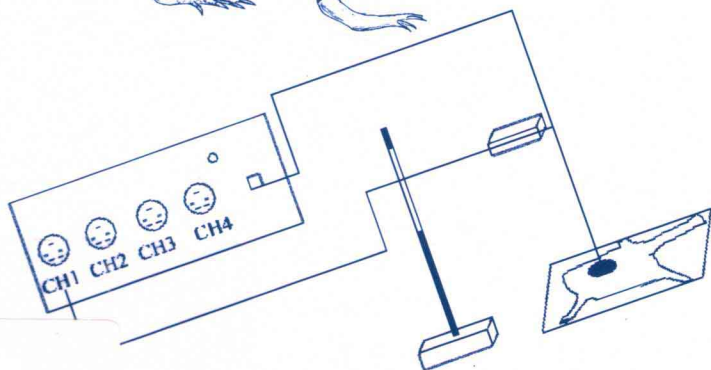
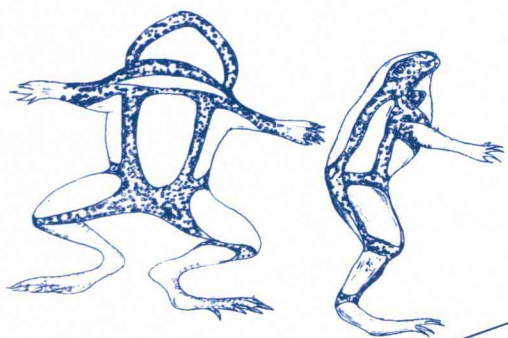


机能学实验教程

主编 李耀华 吴建新 周 萍



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

机能学实验教程

Jinengxue Shiyan Jiaocheng

主 编 李耀华 吴建新 周 萍

副主编 秦 燕 苏 娟 田昆仑

主 审 钱金楸 段利华 杜一民

编 者 (按姓氏笔画排序)

王 茜 田昆仑 朱云奇 苏 娟 李耀华

杨玲玲 吴建新 周 萍 赵 贝 钮荣祥

秦 燕 徐 立



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

内容简介

本书旨在培养学生科学思维 and 创新能力。全书共分四章,内容涵盖机能学实验基础知识(实验的基础知识和基本技术)、机能学基础实验(基础验证性实验)、机能学综合性实验(综合提高性实验及病例分析)、机能学实验设计(探索性实验)和附录部分。本书内容丰富、系统,知识性强,阐述简明,突出知识的应用和研究探索。实验内容包括实验目的、实验原理、实验对象、实验器材和药品、实验步骤与观察项目、注意事项和思考题,注重培养学生动手能力和实验过程的科学体验。

本书主要作为高等医药院校临床医学、预防、基础、影像、药学、检验、护理等专业本科生的机能学实验教材,各专业可根据教学的要求、学时不同选择实验项目,也可作为硕士生和相关研究人员的参考书籍。

图书在版编目(CIP)数据

机能学实验教程 / 李耀华, 吴建新, 周萍主编. — 北京: 高等教育出版社, 2013. 1
ISBN 978 - 7 - 04 - 036882 - 6

I. ①机… II. ①李…②吴…③周… III. ①机能(生物) - 人体生理学 - 实验 - 医学院校 - 教材 IV. ①R33 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 012143 号

策划编辑 席 雁 孙葵葵 责任编辑 孙葵葵
封面设计 张 楠 责任印制 张福涛

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
印 刷 北京市白帆印务有限公司
开 本 787mm × 1092mm 1/16
印 张 9.75
字 数 230 千字
购书热线 010 - 58581118

咨询电话 400 - 810 - 0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landracom.com>
<http://www.landracom.com.cn>
版 次 2013 年 1 月第 1 版
印 次 2013 年 1 月第 1 次印刷
定 价 21.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 36882 - 00

前 言

现代医学教育不仅要让学生系统掌握基础医学的理论知识，更要培养学生的科学思维 and 创新能力。多数医学生在学习医学基础知识阶段仅重视理论知识的提高而忽略实践课程的学习，学校所设置的实验课程多数也是以验证本学科知识理论为主，这种各自为营的教学体系不利于创新型人才的培养，使学生缺乏科学创新的原动力。原有的生理学、病理生理学和药理学等机能实验课程的设置使学生难以建立生物机能的整合观念，难以掌握科学思维与综合技能。现将生理学、病理生理学和部分药理学实验合并，形成一门机能学实验课程，这将有利于各学科知识的融合，有利于学生综合能力的培养。

机能学实验是以生理学、病理生理学和部分药理学等机能学科的理论为基础，以整体动物和离体器官、组织作为实验对象，研究机体各种生理活动及规律、病理生理改变、药物与机体相互作用及规律的一门多领域整合性实验课程。在机能学实验教学活动中，遵循综合、循序渐进的教学方式，使学生在初步了解机能实验基本技能和经典实验的基础上，进行综合性实验和病案分析，最后进行科研实践。机能学实验是机能学科的重要组成部分，也是医学基础课程与临床课程之间的一座桥梁。

本书内容丰富而翔实，较系统地介绍了机能学实验研究所必需的基本知识与技术。包括实验设计、论文撰写、实验常用仪器的知识与应用、动物实验的基本知识等。本书的另一特点是实用性强、选择性大，实验内容设计不拘泥于单一学科知识领域，而从整合观念上着眼于学生综合机能学科知识能力的培养，构建了具有应用研究前景的实验内容与方法。

本书由全体编写人员精心编撰而成。编写人员均为长期从事机能学实验教学的第一线中青年骨干教师和资深科研人员，对基础医学教学有十分丰富的经验，同时也是机能学实验的改革者和倡导者。我们希望此书的出版能受到广大读者的欢迎。由于编写经验和时间有限，书中难免有不当之处，恳请广大读者指正。

吴建新 李耀华 周 萍

2012 年 11 月

目 录

第一章 机能学实验基础知识	1
第一节 机能学实验概述	1
第二节 常用手术器械和常用生理溶液	4
第三节 实验常用仪器	8
第四节 BL-420 生物机能实验系统	17
第五节 常用实验动物的基本操作技术	38
第二章 机能学基础实验	64
实验一 坐骨神经-腓肠肌标本的制备、刺激强度和刺激频率对骨骼肌收缩的影响	64
实验二 神经干动作电位的引导、兴奋传导速度的测定和不应期的测定	67
实验三 红细胞渗透脆性实验	70
实验四 出血时间和凝血时间测定	73
实验五 ABO 血型鉴定和交叉配血	75
实验六 心音听诊	78
实验七 人体动脉血压测定	80
实验八 蛙心期前收缩和代偿间歇实验	82
实验九 减压神经放电实验	84
实验十 胸膜腔内压和气胸实验	86
实验十一 人体肺通气功能测定	88
实验十二 膈神经放电实验	90
实验十三 家兔离体小肠平滑肌的生理特性实验	92
实验十四 视敏度、视野的测定及瞳孔对光反射实验	95
实验十五 声音的传导途径测定	98
实验十六 破坏动物一侧迷路的效应观察	100
实验十七 反射弧的分析	101
实验十八 损坏小鼠一侧小脑的效应观察	102
实验十九 去大脑僵直实验	104
实验二十 大脑皮层运动功能定位	105
第三章 机能学综合性实验	108
实验二十一 呼吸运动的调节及急性呼吸衰竭	108

实验二十二	动脉血压的调节与失血性休克及微循环观察	110
实验二十三	兔胆汁分泌的调节及肝性脑病	114
实验二十四	尿生成的影响因素及急性肾衰竭	118
实验二十五	影响心输出量的因素与急性心力衰竭	121
实验二十六	离体心脏灌流实验	124
实验二十七	病案分析	126
第四章	机能学实验设计	129
第一节	科研选题	129
第二节	实验设计	130
第三节	实验实施	134
第四节	实验结果的整理、分析、判断及结论的形成	135
第五节	实验论文的撰写	135
附录		140
附录一	实验动物的一般常数	140
附录二	动物给药量的确定及人与动物的用药量换算方法	142
附录三	英汉对照机能学实验常用术语	144

要求实验者严格按有关规程进行操作。同时要学会不断总结经验,提高操作技能。

(三) 机能学实验课的要求

为了实现机能学实验课的目的,在实验前、实验中和实验后应分别按照以下要求去做。

1. 实验前

(1) 仔细阅读本课程和有关课程的讲义,了解实验的目的、要求、步骤和操作程序。

(2) 设计好实验原始记录的表格,拟订对本实验结果进行分析讨论的发言提纲。

(3) 结合实验内容复习有关理论知识。

(4) 充分理解实验设计原理,预测实验结果及实验过程中可能出现的问题,并制订相应的应对措施。

2. 实验中

(1) 按照实验操作规程认真进行实验。应培养学生独立操作、独立解决问题的能力。

(2) 要养成严肃的科学态度,严格遵守工作要求。保持实验室的整齐、清洁,实验器材的安放整齐稳当、有条不紊。保持实验室安静,不要高声讨论问题,以免影响他人实验。

(3) 要认真观察实验发生的现象和结果,积极思考出现这种现象的原因,并真实客观地记录实验结果,加上必要的文字注释,有时还需要绘制图形进行分析。实验中的每项结果都应随时记录,必要时可进行描记、拍摄等,不可单凭记忆,以免发生遗漏或错误,更不可随意修改数据。

(4) 对实验中取得的结果应考虑:① 取得了什么结果?② 为什么出现这种结果?③ 这种结果有什么生理意义?④ 出现非预期结果的可能原因是什么?等等。

3. 实验后

(1) 将实验用具整理还原,所用器械冲洗干净后,交还借用的器械。如果器械有损坏或缺失,应立即报告负责教师。

(2) 动物尸体、标本和纸片等废品应放到指定地点,不要随地乱丢,严禁丢到水池中,以免堵塞排水管。将实验台擦拭干净。某些试剂或药品可能有毒,或混合后会产生某种毒性,或可能会污染环境,应注意安全,听从老师的安排,适当存放或进行必要的处理,严禁乱放乱弃。要树立牢固的自身安全和环境保护意识。

(3) 搞好实验室的清洁卫生工作,离开实验室前应关灯、关窗、关水龙头。

(4) 认真整理实验结果并撰写实验报告,按时交教师评阅。实验报告中应尽可能使用原始结果,若原始记录图只有一份,可采用复印等方法加以解决。实验报告的书写是培养科学思维和严谨求实科学作风的一种途径,应认真对待,反复推敲,不断提高书写实验报告的技巧和水平。

二、实验室守则

1. 进入实验室前,应充分预习该项实验的实验指导及相关的理论知识,明确本实验的目的。

2. 遵守学习纪律,准时到达实验室并穿好实验工作服。实验时因故外出或早退应向代教老师请假。

3. 实验时必须严肃认真,不得进行任何与实验无关的活动。保持实验室安静,讲话要低声,以免影响他人实验。

4. 要有高度的安全意识,实验时要防止触电,避免电器短路,防火和防止漏水。

5. 实验室内各组仪器和器材由各组自己使用,不得与别组调换,以免混乱。如遇仪器损

坏或部件故障，应报告代教老师或实验准备室技术人员，以便修理或更换，不要自行修理。

6. 爱惜公共财物，注意节约各种实验耗材和用品。

7. 爱护实验动物。实验用动物按组配发，如需要补充，须经代教老师同意才能补领。

8. 保持实验室清洁整齐，不必要的物品不要带进实验室。实验完毕后，应清洁实验器材和实验台。动物尸体、纸片等废品应放到指定地点，不得随地乱丢。离开实验室要关好水、电、门窗，确保实验室安全。

三、实验报告的书写

实验报告是对实验的总结，是表达实验研究成果的一种形式。书写实验报告是一项重要的基本技能，是书写论文的基础。通过书写实验报告，可以熟悉撰写科研论文的基本格式，学会绘图制表的方法；学习如何应用有关理论知识和查阅相关文献资料，对实验资料进行整理分析，得出实验结果；有助于培养独立思考、严谨求实的科研作风。

书写实验报告应注意内容真实、准确，文字简练、通顺，书写整洁，标点符号、外文缩写、单位度量等准确、规范。

（一）实验报告的一般格式

1. 姓名、专业、年级、班次、组别（此项可写在实验报告本的封面）
2. 实验序号和题目（注明日期、室温和湿度）
3. 实验目的
4. 实验原理
5. 实验对象
6. 实验药品和器材
7. 实验方法和步骤
8. 实验观察项目及结果
9. 讨论
10. 结论

（二）实验报告的书写

1. 实验序号和题目

实验题目要能够明确表达实验的内容。

2. 实验目的

实验目的相当于论文前言部分，但不要求提供背景。要直截了当地说明为什么要进行该项实验，要解决什么问题，具有什么意义。

3. 实验对象

人：注明性别、年龄、职业、健康状况。

动物：注明来源、种属、性别、年（周）龄、健康状况。

4. 实验药品和器材

药品：注明中英文及缩写、来源和批号剂量、施加途径与手段。

器材：所有的仪器、材料应介绍齐全，包括名称、型号、规格、数量。

5. 实验方法和步骤

通常按时间顺序用序号列出每一步操作，说明实验方法、实验过程中的具体步骤。

6. 实验结果

实验结果是实验过程中观察到的现象和原始记录的资料（如曲线）和数据、经过。在实验完成之后，应对实验过程中观察到的现象和原始记录的资料（如曲线）和数据进行认真核对、系统分析，对数据进行统计学处理，形成实验结果。实验结果可以适当的图、表形式表达，配以必要的简明文字加以叙述。

7. 讨论

实验结果的讨论是根据已知的理论知识对实验结果进行实事求是、符合逻辑的分析推理，从而推导出恰如其分的结论，最好能提出实验结果的理论意义和应用价值。如果实验出现非预期的结果，绝对不能舍弃或随意修改。要对“异常”的结果进行分析研究，找出出现“异常”结果的原因。有时，正是从某种“异常”的结果中发现新的有价值的东西，从而建立新理论，或者改进实验技术等。

8. 结论

结论应与本次实验的目的相呼应。结论是从实验结果和讨论中归纳出的概括性判断，即本次实验所能验证的理论的简明总结。实验结论不是实验结果的简单重复，不应罗列具体的结果，也不能随意推断和引申。如果实验结果未能说明问题，就不应勉强下结论。

第二节 常用手术器械和常用生理溶液

一、常用手术器械

常用手术器械如图 1-1 所示。

(一) 蛙类常用手术器械

1. 金属探针

金属探针用于破坏蛙类的脑和脊髓。

2. 剪刀

普通粗剪刀用于剪皮肤、肌肉和骨等粗硬组织，细剪刀或眼科剪刀用于剪神经、血管和心包膜等细软组织。禁用眼科剪刀剪皮肤、肌肉或其他粗硬物。

3. 镊子

圆头镊子对组织损伤较小，用于夹捏组织和牵提切口；有齿镊子用于夹捏骨头和剥脱蛙皮；眼科镊子有直、弯两种，可用于分离神经、血管和夹捏细软组织。切不可用镊子直接夹捏或牵提神经、血管。

4. 玻璃分针

玻璃分针用于分离血管、神经等组织，不可用力过猛，以防折断。

5. 蛙心夹

使用时将蛙心夹的一端夹住蛙心尖部，另一端借助缚线连于换能器，以描记心脏的舒缩活动。



图 1-1 常用手术器械

6. 蛙板

蛙板用于固定蛙类，以便进行解剖和实验。板上有多个圆孔，用以在镜下观察蛙舌、肠系膜微循环。制备神经-肌肉标本时，可将蛙腿用大头针固定在蛙板上，并在蛙腿下垫一块玻璃片进行操作。

7. 锌铜弓（锌铜叉）

制备神经-肌肉标本时常用其对标本施加刺激，以检查神经-肌肉的兴奋性，或用其来刺激神经以判断支配肌肉的神经分支。

（二）哺乳类常用手术器械

1. 手术刀

手术刀用于切开皮肤和脏器。常用手术刀由刀片和刀柄组成。根据手术的部位与性质，可以选用大小、形状不同的手术刀片。刀片宜用血管钳夹持安装（图1-2），避免割伤操作者手指。刀柄一端为一钝性分离器，可以用于分离组织，或用以显露手术野深部。常用的执刀方法有4种（图1-3）。

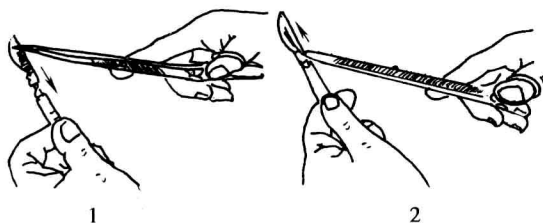


图1-2 安装、取下刀片法

1. 安刀片法 2. 取刀片法

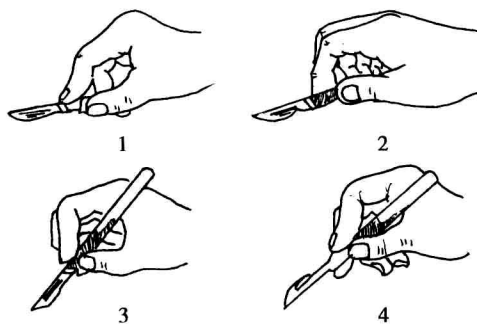


图1-3 执刀方法

1. 执弓式 2. 握持式 3. 执笔式 4. 反挑式

（1）执弓式：是一种常用的执刀方法，动作范围广而灵活，用于腹部、颈部或胸部的皮肤切口。

（2）握持式：用于用力较大、范围较广的切口，如切开较长的皮肤、截肢等。

（3）执笔式：用于用力轻柔而操作精巧、小而精确的切口，如眼部手术，局部神经、血管手术，腹膜小切口等。

（4）反挑式：使用时刀口朝上，常用于向上挑开组织，以免损伤深部组织。

2. 剪刀

剪刀有手术剪刀、眼科剪刀、普通粗剪刀之分，又有大小、形状（直、弯、尖头及圆头）、长短之分。持剪的方法是以拇指和无名指分别插入剪柄的两环，中指放在无名指指环前面的外方柄上，示指轻压在剪柄和剪刀交界处（图1-4）。

（1）直、弯手术剪刀：直手术剪刀用于剪神经、血管、脂肪、肌肉等组织，弯手术剪刀用于剪毛。

（2）眼科剪：常用于剪包膜、神经，或剪开血管、输尿管以便插管，禁用眼科剪刀剪皮肤、肌肉、骨骼等。

（3）普通粗剪刀：用于剪毛、皮肤、骨骼或剪破组织。

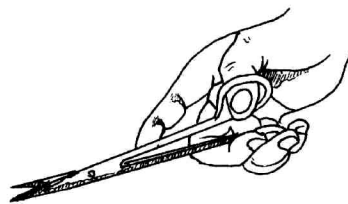


图1-4 执剪姿势

3. 止血钳

止血钳有大、小、直、弯、有齿、无齿之分。根据止血部位不同，所需的止血钳类型不同。执钳方法与手术剪同。

(1) 直止血钳：无齿止血钳主要用于手术浅部止血，也可用于浅部的组织分离。有齿止血钳主要用于强韧组织的止血、提起切口处的皮肤等，不能用于皮下止血。

(2) 弯止血钳：主要用于手术深部组织或内脏止血，不宜用于夹持血管、神经及脆弱的组织。

(3) 蚊式止血钳：适用于分离小血管及神经周围的结缔组织及小血管止血，不宜用于夹持大块或坚硬组织。

4. 镊子

镊子分有齿和无齿两类，大小长短不一，可根据手术需要选用。执镊方法用拇指对食指和中指，不宜握于掌心内（图1-5）。

有齿镊用于牵拉切口处的皮肤或坚韧的筋膜、肌腱，不可用于夹捏内脏及血管、神经等软组织；无齿镊用于夹捏皮下组织、脂肪、黏膜和血管等；眼科镊用于夹捏细软组织。

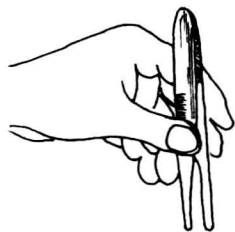


图1-5 执镊姿势

5. 持针器

持针器的头端较短，口内有槽。执持针器的姿势与执剪刀略同，但为了缝合方便，仅用手掌握住其环部即可，不必将手指插入环口中（图1-6）。

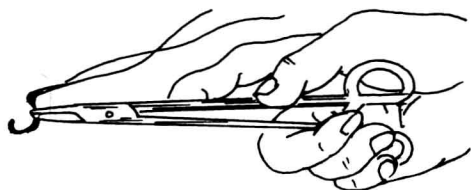


图1-6 执持针器姿势

6. 组织钳（艾丽丝钳）

组织钳的弹性大而软，尖端有细齿，对组织损伤轻微，用于夹持皮肤、皮下组织及手术野铺巾。

7. 缝针

缝针有大、小、直、弯、圆、三角之分。圆针用于内缝组织，三角针用于缝合皮肤。

8. 骨钳

骨钳有剪刀式和小碟式两种。用于打开颅腔和骨髓腔时咬切骨质，剪刀式适用于咬断骨质，小碟式适用于咬切骨片。

9. 颅骨钻

颅骨钻用于开颅钻孔用。

10. 动脉夹

动脉夹用于夹闭动脉以阻断动脉血流，以便动脉插管；还可用于兔耳缘静脉注射处夹闭止血。

11. 各种插管

“Y”形管为气管插管，可根据动物的气管大小而选择。用于急性动物实验时插入气管，以保证呼吸道通畅。用粗细不同的塑料管制成的插管，可作动脉、静脉、输尿管插管之用。

二、常用生理溶液

在进行离体组织或器官实验时，为了维持标本的“正常”功能活动，标本所处的环境指标，如电解质成分、渗透压、pH、温度，甚至某些营养物质的浓度，须尽可能地与体内环境相接近。

满足这样条件的溶液称为生理代用液，或称生理溶液。最简单的生理溶液为 0.9%（内温动物）或 0.65%（外温动物）的 NaCl 溶液，又名生理盐水。但单纯的生理盐水与体液（细胞外液）有很大不同，因为其难以长时间维持离体组织或器官的正常活动，为此，Ringer 在溶液中添加 CaCl₂ 等电解质，能长时间地维持蛙心跳动，该溶液称为任氏（Ringer）液。此后，许多生理学家按其工作需要，配制了各种生理溶液（表 1-1）。

表 1-1 常用生理溶液的名称及成分

	等张 氯化钠液	任氏液 (Ringer Sol)	拜氏液 (Bayliss Sol)	洛氏液 (Locke Sol)	台氏液 (Tyrode Sol)	豚鼠支气管液 (Thoroton Sol)	大白鼠 子宫液 (Dale Sol)	克氏液 (Krebs Sol)
NaCl (g)	外温动物 6.0~6.5 内温动物 8.5~9.0	6.5	6.5	9.2	8.0	5.59	9.0	6.9
10% KCl (mL)		2.0	1.4	4.2	2.0	4.6	4.2	3.5
5% CaCl ₂ (mL)		2.0	2.4	2.4	2.0	1.5	0.6	5.6
5% NaHCO ₃ (mL)		4.0	4.0	3.0	20.0	10.4	10.0	4.2
5% MgCl ₂ (mL)					2.0	0.45		
5% NaH ₂ PO ₄ (mL)				0.2		2.0		
Glucose (g)		2.0	1.0	1.0		0.5	2.0	
pH			7.5	8.0				
应用对象	蛙、龟、 蛇、狗、 兔、鼠	离体神经	离体蛙心	哺乳动物	兔肠	豚鼠支气管	大白鼠 子宫	哺乳动物

本表为配制 1 000 mL 溶液之用量。配制时，在加各种盐的顺序中，CaCl₂ 排最后，Glucose 临用时加入。

这些代用液不仅电解质的晶体渗透压与体液相同，而且几种离子的比例、O₂ 与葡萄糖的含量以及缓冲能力也与体液相同，用这样的代用液能更长久地保持离体组织或器官的功能。

代用液不宜久置，故一般现用现配，为方便配制，最好事先配好代用液所需的各种成分浓度较高的基础液，临用时按所需量，取基础液置于瓶中，加蒸馏水到定量刻度即可。在配制溶液前，应当烘干原料，然后精确称量。值得注意的是，在加入电解质时，如所配制溶液要求含 NaHCO₃ 或 NaH₂PO₄ 而又需加入 CaCl₂ 时，则前两种盐都必须事先完全溶解而且充分稀释后，方可逐滴加入氯化钙，否则易产生 CaCO₃ 或 Ca₃(PO₄)₂ 沉淀物，使溶液混浊。葡萄糖应在临用时加入，因含有葡萄糖的溶液不能久存。

要注意测定与校正已配制成的生理代用液的 pH。Ringer 液应校正到 pH 7.2，Locke 液和 Tyrode 液应校正到 pH 7.3 ~ 7.4。

第三节 实验常用仪器

一、概述

生理学实验常用的仪器设备很多，包括了记纹鼓、电子放大器、示波器、多导记录仪等常用的经典仪器设备和目前越来越为人们广泛使用的先进的计算机生物信号采集与处理系统。

这些仪器一般由如下四大部分组成（图 1-7）：

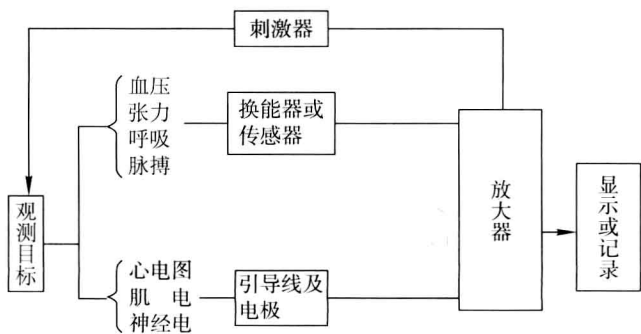


图 1-7 常用生理实验仪器的基本组成部分和连接示意图

1. 刺激部分

常用的刺激装置为电子刺激器和感应电刺激器。能给动物某个部位如神经或组织细胞以刺激，通过调节仪器不同旋钮或命令可调节刺激强度及时间，再通过记录（显示）部分观察与记录组织、器官功能的变化。

2. 引导转换部分

电极，换能器（张力换能器，压力换能器等）。将信号从原始生理现象如机械收缩、压力和声音等变换为生物电信号。

3. 采集、放大部分

把微弱的生物电信号加以采集并放大。最原始的经典实验仪器是各式各样的杠杆和记纹鼓，现在通常使用的信号调节记录系统是示波器、记录仪或功能更多的计算机生物信号采集与处理系统。

4. 记录（显示）部分

用纸带记录仪记录或显示屏显示信号。通过调节相关旋钮（或软件）来调节记录走纸（或扫描）的速度和显示扫描的时间（信号的 X 轴）。这类系统包括示波器、附示波器照相机、多导生理记录仪、X-Y 记录仪、磁带记录仪、计算机系统等。

二、电刺激器具

电刺激是生理学实验中最常使用的人工刺激。因其强度、频率、时程和变化形式等刺

激参数均易于精确控制,只要掌握适当,不易造成组织的损伤。对于神经纤维和肌肉组织来说,电刺激也最接近于体内的自然刺激。在生理实验中,通常将能够产生刺激引起组织兴奋且可控制的电刺激仪器称电刺激器。将刺激器产生的电流(或电压)引导到组织的器具,称刺激电极。

(一) 电刺激

电刺激是由流入可兴奋组织的一个或多个电流脉冲所组成的。进行电刺激时首先要考虑所用的电刺激的各项参数。采用不同的参数刺激同一组织结构,可出现不同的甚至相反的反应。

1. 刺激电流的波形

刺激电流的波形大致有三种,即正弦波(sine wave)、方波(square wave)、不对称的波形(如感应电波)。其中最常用的是方波,电流的上升时间是几微秒到几十微秒,持续时间从几十微秒到几秒。常采用方波刺激的原因不仅是波形简单,易于产生和严格控制,而且计算刺激量也比较容易,陡峭的前沿刺激电流也比较有效。

但是如果采用单向方波刺激时波宽太大(超过1 ms)或采用直流电刺激作用时间太长,均可引起很大的损毁效应。为了尽量减少刺激电流引起的热和电解作用对生物体的影响,在保持刺激有效的前提下,必须尽可能地缩短刺激时间,而且要采用双向方波刺激。后者特点在于:在正方波时离子向一个方向运动,紧接而来的负方波使离子向相反方向运动,这样可极大地减少电解作用。有人认为,一般开始采用电刺激法时,以波宽1 ms、电压10 V左右,双向方波,每秒钟100次(50对)为好。若波宽减至0.5 ms以下,电压常加大到50~90 V为好。

2. 刺激电流的强度

刺激电流的强度可用电压(电位差)或电流强度来表示。电流强度一般在几微安到几十毫安,工作中电压可在200 V以内,在某些特殊情况下可超出这个范围。电刺激之所以能引起组织兴奋,是由于它可使细胞膜静息电位降低到阈电位,若用的电流太低则不能引起兴奋,电流过大,则对引起兴奋来说,不再起更大的作用,反而可引起组织内电解和发热效应,使细胞受到破坏。因而在进行电刺激时,要控制电压强度或刺激电流密度(density of stimulating current)。一般电流与电压强度是平行增减的。但实验证实,经多次刺激之后,电压的变化不大,而电流则随电极尖部的极化作用而降低。

3. 刺激电流脉冲的重复频率

刺激电流脉冲的重复频率一般不大于1 000次/s。当刺激太频繁时,有一部分刺激会落在组织的不应期而无效。刺激中枢神经系统所需的频率到底以多少为好,这要看要求该结构有哪种反应。例如用电刺激狗脑的额叶眶回,当频率为6次/s时呼吸变慢,30次/s时呼吸停止,60次/s时呼吸加深加快,180次/s时无反应。实际工作中以60~100次/s为好。

4. 重复刺激时间和各串刺激相隔时间

当一串刺激停止之后,在一些脑组织结构中的后效应可延续几毫秒到几秒之久。经较长时间连续刺激后,被刺激的部位可能出现增益作用。但有时亦可引起效应减弱(称之为“疲劳”)。对于引起机体活动的中枢神经结构,每串刺激时间可持续10~20 s。超过这一限度常可致“疲劳”。

为了避免一串刺激对下次刺激的影响,在安排刺激程序中,对各串刺激彼此相隔的时间必须加以考虑。应容许中枢兴奋状态和中枢抑制状态消失后,再给予刺激。这个条件在对效果进行叠加处理时更为重要。例如刺激皮层运动区而观察肢体运动时,各串刺激间的间隔至少 1 min。刺激来自 4 区及 6 区的下传系统则每串刺激常需间隔 30 ~ 40 min。而刺激下丘脑侧部时,这种间隔可不予考虑。

为了实际使用方便,往往采用在刺激电极上测得的参数作为上述各刺激参数,事实上,要确切了解作用在可兴奋组织上的电流强度和波形是很困难的。因为想要刺激的可兴奋组织往往不可分割地与其他组织、生物体液等联系在一起。刺激电流要经过周围组织、体液才能到达可兴奋组织,这样,一部分刺激电流不可避免地流向周围的组织,而且刺激电极、可兴奋组织、周围组织等的阻抗中除电阻成分外还有电容成分。因此,尽管我们可以精确地控制刺激电极上的电流和电压波形,但如果不在电极的设置和安放、标本的制备等方面精心设计,仍然不能精确地得到可兴奋组织的电流强度和波形。为此对实验结果作解释时,必须要考虑上述各种因素的影响,否则,可能会导致错误的结论。

(二) 电刺激器

1. 概述

电刺激器是一种能产生一定波形的电脉冲仪(图 1-8)。多数产生的波形是方波,方波的上升支和下降支理论上都是垂直的。在通电期间,电压维持在同一水平上。用作刺激时,可以调节方波的振幅(电压强度)、波宽。用作连续刺激时,除调节方波的振幅与波宽外,还调节频率,有的还能调节“串长”,即连续产生数个脉冲,然后自动停止。

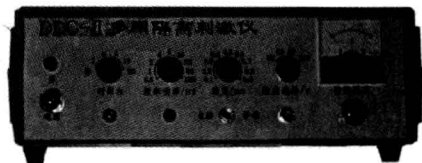


图 1-8 电子刺激器

电刺激器除能调节刺激参数以适应实验需要外,为了配合示波器或需用刺激器作为触发源的仪器使用,一般还有两个触发信号输出接线柱(一般在背板):一是“延迟同步”,使用时,使它与示波器的“同步输入”相连接,以便刺激器发出刺激脉冲时,同时触发示波器进行扫描,使生物电变化呈现在荧光屏的一定位置上;另一个是“非延迟同步”,即在按动刺激器的开关后,立即触发示波器产生扫描,但稍迟一定时间后,再输出刺激脉冲。这样可以使生物电反应出现在荧光屏的较中央处,而不是在扫描开始处(配合使用的其他仪器的使用方法相同)。当双机连用产生两个脉冲时,“延迟同步”可用于调节两个脉冲间的间隔。

2. DCQ-2 型生理电刺激器

在这里以 DCQ-2 型生理电刺激器为代表介绍电刺激器的使用方法,此型刺激器在单机使用时,可产生单脉冲、串脉冲、重复单脉冲、重复串脉冲和直流电。从数字拨盘开关上可直接读出主间隔、延迟、串间隔和波宽的数字和时间单位,同时直接确定串刺激的脉冲个数,输出电压可在面板刺激强度的指示器上直接读出。

(1) 面板控制器的参数和使用方法(图 1-9)

电刺激基本参数说明(图 1-10):

- 1) 主间隔(T_1):控制整机输出脉冲(包括刺激脉冲和触发脉冲)的总周期。
- 2) 延迟(T_2):设置触发脉冲(来自主间隔或外部输入)到刺激输出脉冲的时间。

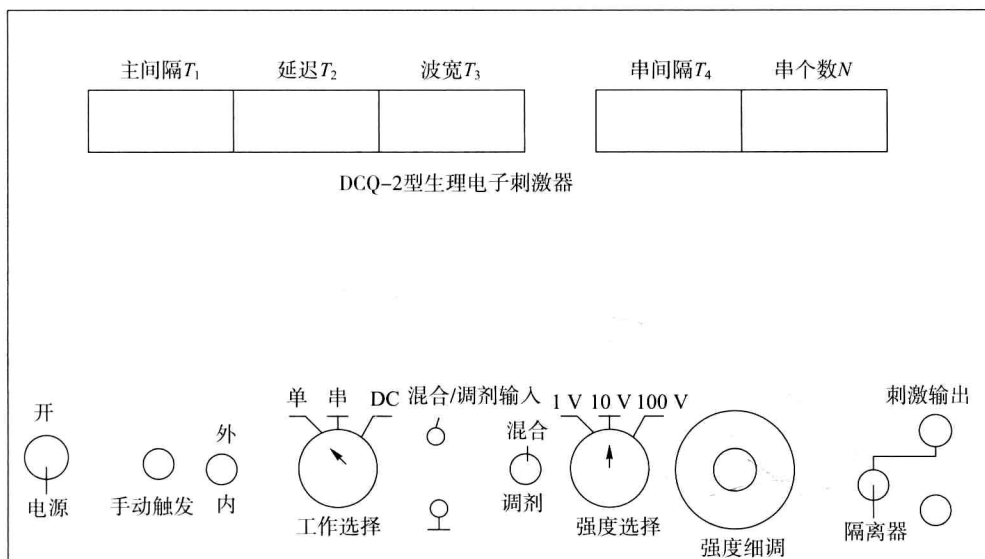


图 1-9 DCQ-2 型生理电子刺激器面板控制器

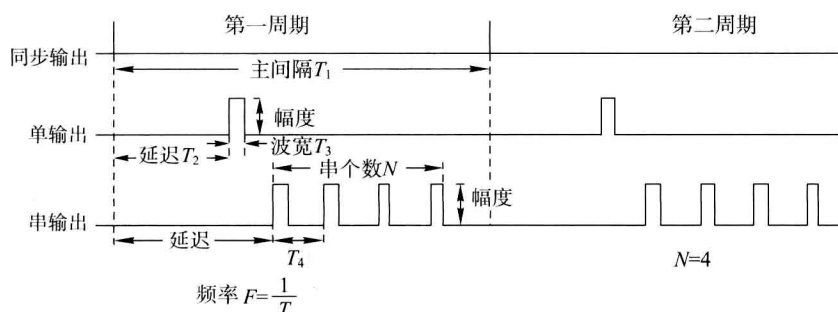


图 1-10 电刺激的基本参数

- 3) 波宽 (T_3): 设置矩形波输出脉冲的持续时间。
- 4) 串间隔 (T_4): 设置双脉冲或串脉冲中脉冲之间的间隔。
- 5) 串个数 (N): 设置每次触发的串脉冲中的脉冲个数。

注意事项:

第一, 设置方法: ① T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 的设置方法: 单位设置, 转动最后一片拨盘设置时间单位 (粗调), 分别为 $100 \mu\text{s}$ 和 100ms 。时间设置, 转动拨盘的开关到所需的刻度值。② 串个数的设置: 转动拨盘的开关到所需的刻度, 单位是个。

第二, 各拨盘的开关之间的时间关系为: $T_1 > T_2 + T_4 \times (N-1) + T_3$, $T_4 > T_2$ 。

第三, 各拨盘开关均不能置于“000”, 否则输出不正常。

6) 电源开关: 按下此按钮时, 电源接通, 5min 后仪器即可正常工作。

7) 触发选择器

① 内: 当开关置于“内”位置时, 仪器由主间隔 T_1 发出的脉冲来触发刺激脉冲与主间隔同步。

② 外: 当开关置于“外”时, 仪器被来自背板电脉冲触发接头的外部输入信号所触发, 不由背板遥控触发和面板的手动触发引起的开关信号进行触发。

8) 手动触发: 当触发选择开关置于“外”时, 每按一次即可在刺激输出接头获得单个或单串的刺激脉冲。

9) 工作选择: 单, 即每次触发产生一个矩形波; 串, 即每次触发产生一串矩形波; DC, 即输出直流电压。

10) 混合/调剂输入: 是接受外部仪器的信号输入。用于和本机信号混合或调剂本机的刺激脉冲幅度变化。允许最大输入电压是 100 V。

11) “混合/调剂”开关: 用于与其他波形发生器或另一台 JJC-2A 型电子刺激器联用产生特殊的刺激脉冲, 在单机使用时, 此开关拨向“混合”。

12) 强度选择: 分三挡, 即 1 V, 10 V 和 100 V。

13) 强度细调: 刺激强度可通过十圈电位器来调节, 旋钮上有内外两圈, 当外圈转动一圈时, 内圈转动一个数码 (通过旋钮上的小窗口可看到红色的数码)。

14) 刺激输出选择: 拨向上时, 刺激脉冲由“刺激输出”接头输出; 拨向下时, 则由“隔离器”插座输出。因此, 可兼做输出开关, 即拨向下时, 刺激输出接头无脉冲输出; 拨向上时, 刺激隔离器插座无输出。

15) 刺激输出: 刺激脉冲由此接头输出。红色接头为正, 黑色接头为负 (地)。

(2) 背板控制器的作用

1) 非延时同步: 此接头输出一个与主间隔 T_1 同步的触发脉冲, 脉冲峰值约为 20 V, 波宽约 5 μs 。

2) 延时同步: 此接头输出一个与延时 T_2 同步的触发脉冲。

3) 电脉冲触发: 此接头接收外部仪器输出的同步触发信号。

4) 遥控触发: 此接头接收开关触发信号。

5) 同步电磁标: 此接头输出与主间隔 T_1 同步的电脉冲, 用于驱动电磁标, 在记录纸上画出标记, 可作为刺激频率同步标记。

6) 刺激电磁标: 此接口输出与输出选择同步的电信号用于驱动电磁标, 可作为刺激持续时间的标记。

7) 电源输入插座: 输入交流电源 220 V。

8) 电源保险丝: 内装 0.5 A 的管状保险丝。

9) 送隔离器: 把主机的信号和电源通过电缆送往刺激隔离器。

10) 主间隔选择: (双机连用时使用) 内——使用本机主间隔 (单机使用时也使用此挡), 外——使用外机主间隔。

(三) 刺激伪迹与刺激隔离器

生物体的各种体液的导电性是相当好的, 这使生物体成为一个容积导体。当对实验动物同时进行刺激和记录生物电时, 刺激器输出和放大器输入具有公共接地线, 使得一部分刺激电流流入放大器的输入端, 使记录器记录到一个刺激电流产生的波形, 这不是要记录的生物电, 因此叫做刺激伪迹。因为一般生物电是很微弱的, 当刺激电极靠近记录电极时, 刺激伪迹的波幅往往超过生物电。有时刺激伪迹能使记录系统进入不正常甚至完全阻塞的状态。伪迹以后还有一段时间不能恢复正常, 严重地干扰了生物电的记录。

如何减少刺激伪迹? 首先要在电生理设置中, 在实验许可的情况下尽量使刺激电极和记录电极离得远些, 这是减少伪迹最根本的方法。但是常常由于实验的要求, 刺激电极和记录电极必须靠得很近, 这时为了减少刺激伪迹还须采取以下几种方法。