

病理生理学

人类疾病的动物模型

第二辑

郭 鹞 编

人民卫生出版社

病理生理学丛书

人类疾病的动物模型

第二辑

郭 鹤 编

人 民 卫 生 出 版 社

病理生理学丛书
人类疾病的动物模型
第二辑
郭 鹂 编

人民卫生出版社出版
(北京市崇文区天坛西里10号)
北京市卫顺排版厂印刷
新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 8¹/₂印张 2插页 177千字
1990年6月第1版 1990年6月第1版第1次印刷
印数: 00, 001—2, 600
ISBN 7-117-01279-X/R·1280 定价: 6.05元
〔科技新书目213—247〕

病理生理学丛书前言

病理生理是一门重要的实验性医学基础学科，对有关医学专业特别是临床各科具有重要的意义。当前生物学和医学已经发展到亚细胞水平和分子水平，对于疾病发生机理的研究也进入到一个新的阶段。广大的病理生理学工作者和临床医师都迫切希望有一些较为详细的病理生理学参考书。为了满足广大读者的需要，为了适应我国社会主义现代化建设和医学科学发展的需要，人民卫生出版社委托我们负责主编病理生理学丛书。

病理生理学丛书是一套主要供病理生理学工作者和临床医师阅读的专题参考书，将以专题分册的形式陆续出版。在题材方面我们将选择一些在医学上发展较快，有重大理论和实践意义，并为当前教学、科研和临床工作者迫切需要了解的重大课题，进行比较深入而广泛的论述。

担任编写的作者和审校人员，大多是从从事有关专题研究工作的专业工作者。我们将力图使病理生理学丛书能反映国内外新动向新成就。

由于我们经验不足，水平有限，不当之处，在所难免，希望广大读者批评指正。

湖南医学院	潘世威
上海医科大学	朱益栋
同济医科大学	赵修竹
第二军医大学	吴中立

Et87/03

病理生理学丛书书目

书 名	作 者	出版年月
冷伤	李楚杰 编著	1980年 6月
肝功能不全	韩德五等编著	1981年12月
人类疾病的动物模型 第一 辑	郭 鹄 编	1982年 2月
休克	潘世成 罗正曜 主编	1982年 5月
弥散性血管内凝血	朱益栋 主编	1982年 6月
动脉粥样硬化与冠心病	蔡海江 李子行 苏静怡等编著	1982年11月
肿瘤	潘世成 主编	1984年 8月
烧伤	原世麟 编著	1984年11月
心力衰竭	卢 兴等编著	1986年 4月
内分泌系统病理生理学	周 肃等编著	1987年 2月
水肿	李楚杰 编著	1987年10月
放射损伤病理学	郭 鹄 王克为 王子灿 编著	1987年11月

前 言

由于《人类疾病的动物模型》第一辑出版仓促，使一些兄弟单位的宝贵经验未能纳入，现将陆续收到的资料汇编成第二辑。由于种种原因，使第一辑出版与第二辑同读者见面相隔8年之久，深为抱歉。

本辑共分七章，前五章为有关血管内凝血动物模型复制、肿瘤复制、心血管疾病模型复制、呼吸系统疾病模型复制以及消化系统疾病模型复制续篇，第六章为其他一些疾病模型复制，第七章为人类疾病动物模型复制中的一些有关方法学问题。

《人类疾病的动物模型》第一辑出版后收到了原作者及读者一些鼓励与建议，本辑出版亦希望得到批评与指正。

本书编写过程中得到了许多兄弟单位的大力支持，本单位许多同志也参与了抄写稿件及绘制图表，在此一并表示感谢。

郭 鹤

1990年3月于西安第四军医大学

目 录

第一章	急性实验性弥漫性血管内凝血(续)·····	1
第一节	尖吻蝥粗毒对狗引起的急性实验性 DIC模型·····	1
第二节	组织凝血活素对狗引起的急性实验性 DIC模型·····	10
第二章	肿瘤模型复制(续)·····	15
第一节	癌的淋巴道转移模型的建立及其实验 研究·····	15
第二节	小鼠SRS实体型淋巴细胞肉瘤·····	26
第三节	615小鼠可移植性肝癌(H615)·····	31
第四节	DAB诱发大鼠肝癌·····	39
第五节	动物大肠癌模型·····	45
第六节	电离辐射诱发LACA小鼠粒细胞性白 血病模型·····	52
第七节	用 ⁶⁰ Co γ 射线照射和二甲基偶氮苯胺 诱发大鼠肝癌·····	59
第八节	用 ⁶⁰ Co γ 射线照射和甲基胆蒽石蜡丸 骨髓内埋藏诱发大鼠和小鼠肿瘤·····	73
第三章	心血管疾病动物模型·····	85
第一节	心肌缺血的动物模型·····	85
第二节	急性缺血性心力衰竭·····	98
第三节	大鼠室性心动过速模型·····	106
第四节	电刺激兔下丘脑引起缺血性心电变化 的动物模型·····	112

第五节	电刺激兔下丘脑合并冠状动脉损伤诱发的频发性室性早搏模型·····	122
第六节	电刺激兔下丘脑合并灼伤右心房诱发房性心律失常的模型·····	134
第四章	呼吸系疾病动物模型·····	143
第一节	矽肺结核的动物模型·····	143
第二节	急性呼吸窘迫综合征动物模型·····	153
第三节	肺水肿动物模型的复制·····	159
第四节	家兔呼吸道烧伤模型的复制·····	164
第五章	消化系统疾病模型·····	170
第一节	大鼠小肠隐窝细胞的制备·····	170
第二节	狗急性盲肠炎模型复制·····	177
第三节	肠粘连的复制·····	182
第四节	氨基半乳糖实验性肝硬化动物模型·····	186
第六章	其他一些疾病动物模型·····	191
第一节	包虫病动物模型·····	191
第二节	同种组织移植的动物模型·····	212
第三节	小鼠畸胎模型·····	219
第四节	皮肤 β 射线损伤的模型复制·····	226
第五节	复合伤条件下的血管创伤修复·····	228
第六节	大鼠缺碘性甲状腺肿实验模型·····	232
第七节	急性肾性高血压的复制·····	238
第七章	人类疾病动物模型复制中的方法学·····	241
第一节	机体反应性及时间因素在模型复制中的意义·····	241
第二节	人类疾病模型复制中实验动物的选择和应用·····	256

第一章 急性实验性弥漫 性血管内凝血(续)

弥漫性血管内凝血(DIC)的探讨,已有30多年的历史^[1]。人们通过大量动物实验和临床观察,对这个病理过程的病因、发病原理、防治原则以及诊断方法等,都已获得了丰富的资料。最近,国内已有 DIC 专著出版^[2],无疑,它将对这方面的教学和科研起到积极的作用。但很多问题,还有待进一步发展与完善。实验性DIC 动物模型就是手段之一。本文介绍尖吻蝥(又称五步蛇——*Agkistrodon acutus*)粗毒和狗脑凝血活素对狗引起的急性实验性 DIC 动物模型。

文中应用的简略语见以前报告^[1]

第一节 尖吻蝥粗毒对狗引 起的急性实验性DIC模型

一、实验材料和方法

(一) 实验动物

狗13只,其中实验组10只,生理盐水对照组3只,雄、雌(无孕)皆有,体重7.0~12.0kg。实验前用2.5%戊巴比妥钠液麻醉,1.5ml/kg 体重由小隐静脉缓慢注入。在实验中途,有些狗需再补该麻药。按常规暴露股动、静脉,并分别插入硅胶管,前者为取血样本用,后者供注入尖吻蝥粗毒或生理盐水。

(二) 药品试剂

1. 尖吻蝥粗毒结晶 由安徽祁门蛇伤研究所供给。
2. 抗尖吻蝥蛇毒血清(商品名:精制抗五步蛇毒血清) 200u/ml, 上海生物制品研究所制。
3. 6-氨基己酸(EACA) 200mg/ml湖南制药厂制。
4. 抑肽酶 10,000u/ml, 上海生物化学制药厂制。
5. EACA-抑肽酶液合液 取EACA 10ml和抑肽酶1ml用生理盐水配成100ml, 置普通冰箱内, 备用。

(三) 尖吻蝥粗毒注入量及其注入速率

每次实验当天, 将规定剂量的尖吻蝥粗毒(按狗0.5mg/kg体重计算)溶于40ml灭菌生理盐水内, 通过硅胶管缓慢注入股静脉内, 每分钟约2ml, 20分钟注完; 接着再注入灭菌生理盐水20ml, 每分钟约2ml, 10分钟注完。对照组狗注入灭菌生理盐水的途径、总量及其速率均与实验组狗相同(图1-1)。

(四) 采血方法

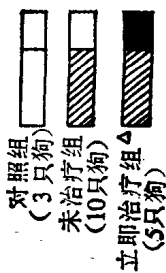
每次实验通过硅胶管从股动脉取血, 开始废弃1ml左右。在注入尖吻蝥粗毒前5分钟及其开始后10、20、30、45、75、120、240和480分钟, 以及48小时分别取血一次。血样本与抗凝剂等物之比为血样本:3.8%枸橼酸钠液:抗尖吻蝥蛇毒血清:EACA-抑肽酶混合液(8份:1份:1/2份:1/2份)。离心3000r/min) 15分钟, 取含微量血小板的血浆作试验测定用。

(五) 实验项目

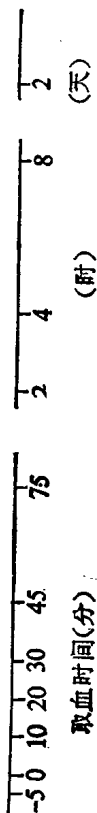
1. BPC
2. 纤维蛋白原含量测定
3. KPTT测定
4. "PT"测定

存活48小时狗，
按下述方法处理

组别



人工处死*
同上
同上



* 用足量2.5%戊巴比妥钠液由股静脉迅速注入
 Δ 本组狗资料,将有另文发表

■ 注入尖吻蝮蛇毒血清
 □ 注入生理盐水

图 1-1 实验设计图解

5. TT测定
6. PPP试验
7. 血清FDP测定

8. 组织学检查 实验狗不论哪一组，如在实验过程中死亡者，均立即解剖，取其肾组织块，置10%福尔马林溶液内，待检。如在实验结果后实验动物未死，再间隔二日（即48小时），由股静脉迅速注入足量2.5%戊巴比妥钠液（部分狗注入10% KCl液）将动物处死，取同样组织，待检。切片用磷钨酸苏木素（PTAH）染色，在光镜下作形态学检查。

二、结果与分析

（一）实验组（未治疗组）

1. 血液学各项指标的动态变化 在未治疗组10只狗中，有5只作为血液学各项指标测定用

（1）BPC 和纤维蛋白原含量的变化：图1-2表明，实验

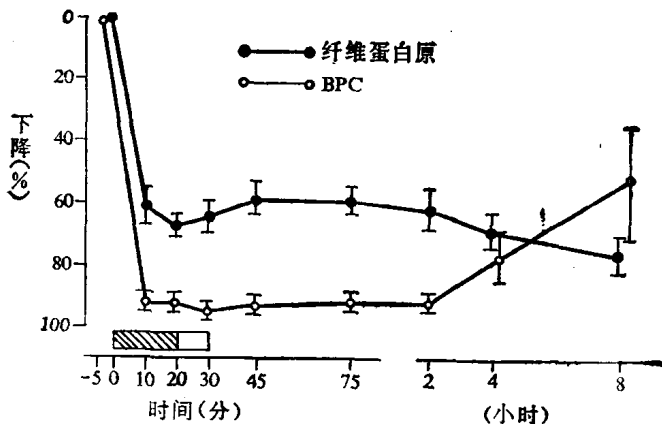


图 1-2 尖吻蝾粗毒对未治疗组狗纤维蛋白原和BPC含量的影响

图中每个点除8小时为3只狗外其余都为5只狗的均值±标准误

狗由股静脉注入尖吻蝥粗毒开始后10分钟和20分钟, BPC均值与原来的均值相比分别下降 92%($P < 0.01$)和91%($P < 0.01$), 并维持在此水平历时约 2 小时; 继之, 测定数值逐渐回升, 直到实验开始后 8 小时, 它才接近原来值(下降 35%, $P > 0.05$)。纤维蛋白原含量在实验开始后 20 分钟下降到最低值(下降 66%, $P < 0.01$), 接着, 稍有回升(下降 56%, $P < 0.01$); 实验开始后 2 小时, 这项数值又再次下降, 直到 8 小时, 仍未见回升(下降 62.4%, $P < 0.01$)。这反映狗在注入尖吻蝥粗毒后, 其调节血浆纤维蛋白原含量的代偿功能所遭受的影响比血小板严重。

(2) KPTT、“PT”和TT 测定的变化: 表1-1显示, 实验狗注入尖吻蝥粗毒开始后10分钟, 部分狗这三项血浆凝固时间已呈现不凝状态; 继之, 全部实验狗这三项测定都不

表 1-1 尖吻蝥粗毒对未治疗组狗KPTT、“PT”和 TT的影响

取血时间(分)	KPTT(秒)	“PT”(秒)	TT(秒)
-5	23.2±2.5	7.6±0.4	9.5±0.3
10	不凝(4/5)*	不凝(3/5)	不凝(2/5)
20	不凝	不凝	不凝
30	不凝	不凝	不凝
45	不凝	不凝	不凝
75	不凝	不凝	不凝
120	不凝	不凝	不凝
240	不凝	不凝	不凝

* KPTT大于60秒, “PT”和TT大于30秒为不凝, 表中括号内分母表示实验狗数, 分子表示测定样本不凝的狗数。

凝，并持续到4小时。这充分反映，尖吻蝥粗毒对实验狗凝血系统的影响极其显著。其可能的原因，已有报导^[3, 4]。

(3) PPP 试验的变化：表1-2反映，实验狗注入尖吻蝥粗毒开始后10分钟，少数狗PPP试验呈现阳性；实验到2小时，这一测定的阳性数达最高值($\frac{4}{6}$)；继之，实验到4小时，PPP试验阳性数下降($\frac{2}{6}$)。这似乎表明，由尖吻蝥粗毒所导致的可溶性纤维蛋白从实验狗血循环内消失较快。这可能与该蛇毒内含有纤溶酶有关^[5]。

表 1-2 尖吻蝥粗毒对未治疗组狗PPP试验的影响

取血时间(分)	-5	10	20	30	45	75	120	240
PPP试验阳性数/实验狗数	0/5*	2/5	2/5	2/5	3/5	3/5	4/5	2/5

(4) 血清FDP的变化：用抗人纤维蛋白原血清在对流免疫电泳脂板上与人或狗血清均显沉淀线，但与人或狗血浆不呈现沉淀线。这说明人的纤维蛋白原与狗的纤维蛋白原具有交叉抗原性。

本文用抗人纤维蛋白原血清借助对流免疫电泳法，对未治疗组狗血清进行FDP测定。图1-3表明，在注入尖吻蝥粗毒开始后10分钟，实验狗血清内已呈现少量FDP(几何均值：1:4，下同)；继之，逐渐增加，实验到75分钟，FDP达最高值(1:256)，并维持在此水平历时约4小时；随后稍有下降，但直到8小时，FDP仍维持在较高水平(1:128)。

正如上文所述，本资料血清FDP指标是用兔抗人纤维蛋白原血清借助对流免疫电泳法测定的。据Merskey报导，用该方法所得的结果，除反映血清FDP外，还包含有可溶性纤

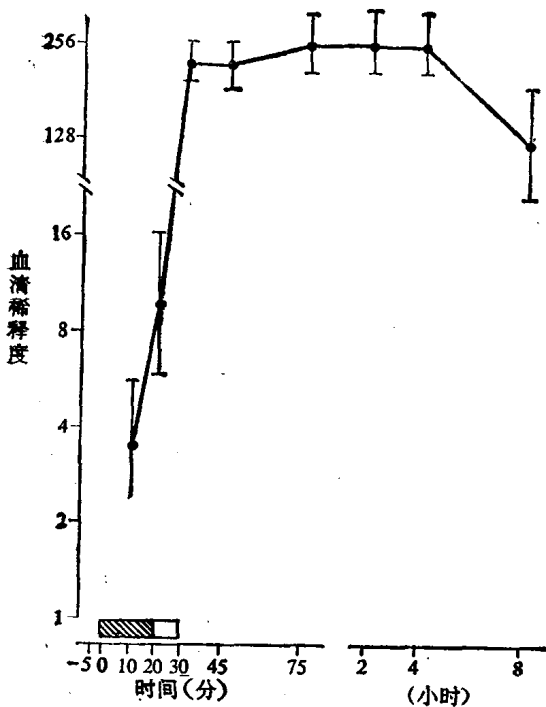


图 1-3 尖吻蝮粗毒对未治疗组狗血清内FDP含量的影响

图中每个点除45分钟为4只狗和8小时为3只狗外，其余都是5只狗的几何均数及其变动范围

维蛋白（如纤维蛋白单体等）在内。故Merskey建议，用该方法所获得的结果，应以纤维蛋白原-纤维蛋白-相关抗原(fibrinogen-fibrin-related antigen FFR-抗原)术语表示为佳⁽⁶⁾。鉴于国内在有关这方面的文献中已习惯用FDP，故本文未采用较确切的FFR-抗原这一术语，而仍用FDP表示。

2. 组织学检查

未治疗组10只狗，都作了肾组织学检查，其中3只狗肾小球毛细血管内有微血栓形成（图1-4）。

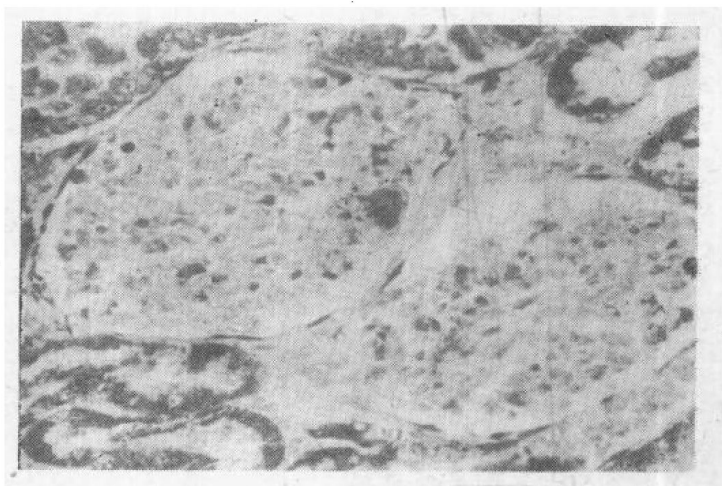


图 1-4 未治疗组狗的肾组织
在肾小球毛细血管内有微血栓 PTAH染色 250×

3. 其他观察

实验狗由股静脉缓慢注入尖吻蝾粗毒开始后 10~240分钟，血浆样本外观都呈现粉红色，尤其是20分、30分二次血浆样本较甚。此外，注入尖吻蝾粗毒开始后 30~120分钟左右，实验狗手术创面和口腔粘膜（包括牙龈）出现明显渗血。

本组10只狗，除2只存活外，其余8只狗于注入尖吻蝾粗毒开始后5~15小时左右先后死亡。故本组实验狗存活率为20%。

(二) 生理盐水对照组

本组3只狗按实验组同样条件,测定了血液学各项指标,并做了肾组织切片检查。结果表明: BPC、纤维蛋白原含量和三项血浆凝固时间的变化,经统计学T测验均无意义($P > 0.05$);血清FDP测定、PPP试验和肾组织学检查都为阴性。实验结束后这三只狗全部存活。

根据以上各项结果,可以认为,我们用尖吻蝥粗毒对狗已建立急性实验性DIC模型。至于其机理除与该蛇毒内所含的类凝血酶有关外^[7],还可能还有其他因素参与。在一定实验条件下,我们用这种类凝血酶对狗引起的急性DIC是属一过性的(实验资料待发表),因此,需进一步研究其机理。

三、应用范围与复制时注意事项

本模型的应用范围见前文^[1]。

复制该模型时,需注意以下二点:

1. 将尖吻蝥粗毒结晶放入灭菌生理盐水内后,待肉眼观察全溶后,还必须用玻璃棒搅拌几分钟,以免粘附在烧杯底部的蛇毒未溶。

2. 组织切片用PTAH染色做纤维蛋白原血栓检查时,要注意假阳性。因近二年,我们陆续收到生理盐水对照狗的心、肺、肝和肾器官组织学检查(光镜)的阳性报告单。目前,我院病理解剖教研室对此问题的判断标准是,以肾小球毛细血管内呈现微血栓为准(PTAH染色法),而其他三种器官组织学检查的结果仅作参考。近二年在我们的生理盐水对照组6只狗中,无一例肾小球毛细血管内出现微血栓。由此联想以前文章^[1]所报导的这方面组织学检查结果,尽管其生理盐水对照组三只狗全部为阴性,但还不能完全排