

BINGLISHENGLIXUE
SHIYAN ZHIDAO

病理生理学 实验指导

■主编 杨洪艳 黄幼田 李 沛

郑州大学出版社

病理生理学实验指导

Binglishenglixue Shiyan Zhidao

主审 董子明

主编 杨洪艳 黄幼田 李 沛

郑州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

病理生理学实验指导/杨洪艳,黄幼田,李沛主编.
—郑州:郑州大学出版社,2003.8
ISBN 7-81048-776-0

I. 病… II. ①杨…②黄…③李… III. 病理生
理学—医学院校—教材 IV. R363

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 049590 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人:谷振清

全国新华书店经销

郑州文华印刷厂印制

开本:787 mm × 1 092 mm

印张:13

字数:297 千字

版次:2003 年 8 月第 1 版

邮政编码:450052

发行部电话:0371-6966070

1/16

印次:2003 年 8 月第 1 次印刷

书号:ISBN 7-81048-776-0/R·577

定价:19.50 元

本书如有印装质量问题,由承印厂负责调换

主 编 杨洪艳 黄幼田 李 沛
编 委 (按姓氏笔画为序)
马俊芬 刘 栋 李 沛
杨洪艳 张琳琳 赵继敏
黄幼田

内 容 提 要

本书简述了病理生理学实验课的特点、基础知识和基本技能、实验设计、疾病模型、网络医学文献的分析、实验报告的写作;详述了与现行病理生理学专业教科书内容配套的实验;附以病例分析和经典实验的英文教程,以突出病理生理学与医学基础研究和临床的联系。该书主要供医学专业7年制和5年制学生使用。

前 言

为适应学科发展和教学改革不断深化的要求,我室在 2000 年出版的《病理生理学实验指导与典型病例分析》基础上,参照其他院校教材,尤其是参照卫生部规划教材《病理生理学》第五版的内容,重新编写了本教程。该教程主要供医学专业 7 年制和 5 年制学生使用。

全书共有 36 章,分 5 篇。第 1 篇介绍基础知识和基本技能。第 2 篇介绍病理生理学基础实验内容,保留了部分经典验证实验,加大了模型制作实验的比例,为培养学生设计探索性试验提供了基础资料。第 3 篇为经典实验的英文教程,可供留学生教学、双语教学时使用,以及供学生自学。第 4 篇为病例分析,以培养学生对问题的分析能力。第 5 篇为科研入门基础篇,简要介绍现代病理生理研究所应用的新技术,为学生集中提供相关技术资料以便参阅。

病理生理学实验对引导学生掌握疾病的发生和发展规律以及探索疾病过程有着重要的作用。本书在继承以往病理生理学实验指导基本要义的基础上,结合培养学生探索能力、信息分析能力、创新能力的要求,对病理生理学实验教学内容、实验方式大胆地进行了调整和改革,对部分内容进行了改写,增加了网络文献检索与分析、经典实验的外文教程、分子病理生理学研究技术等内容,以拓宽学生的知识面,为启发学生自行设计探索性试验奠定必要的基础。从广义上来说,本书更像一本功能齐全的病理生理学实验概要和集萃,有较高的实用价值。

特别致谢我校聘请的外籍教师 Pamela Volland(安恩慧)女士对外文教程的指导;同时感谢我们教研室付春景教授及赵明耀、鄢文海副教授对本书编写工作的无私指导和帮助,以及郑智敏、汤宁、许燕、马秀云等老师的大力支持。感谢 99 级张宁同学在编写过程中做的部分工作。

由于编者水平所限,本书内容和编排上会有某些不足甚至错误,敬请读者批评指正,使本教材更趋完善。

董子明

2003 年 6 月 8 日

目 录

第一篇 病理生理学实验的基础知识与基本技能

第一章 概论	(3)
第二章 病理生理学实验对象的选择	(5)
第一节 青蛙与蟾蜍	(5)
第二节 小白鼠	(6)
第三节 大白鼠	(8)
第四节 豚鼠	(10)
第五节 家兔	(11)
第六节 狗	(16)
第七节 细胞系(株)	(16)
第三章 疾病的动物模型制作	(20)
第一节 动物模型复制的基本要求	(20)
第二节 肿瘤的动物模型	(21)
第三节 心血管系统疾病的动物模型	(22)
第四节 呼吸系统疾病的动物模型	(23)
第五节 消化系统疾病的动物模型	(24)
第四章 常用实验仪器与技术	(26)
第一节 MS302 生理信号记录分析系统	(26)
第二节 换能器	(29)
第三节 血气分析仪	(30)
第四节 显微镜的正确使用和显微摄影	(33)
第五节 分光光度技术	(35)
第六节 电泳技术	(38)
第五章 实验设计	(42)
第六章 网络与医学文献分析技术	(46)
第一节 概述	(46)
第二节 网络医学文献资源	(47)
第三节 网络医学文献的常用检索操作	(47)
第四节 医学文献分析	(50)

第二篇 基础实验

第七章 疾病概论 - 文献分析型实验	(57)
第一节 病理生理学主要研究方法和研究方向	(57)
第二节 判定死亡的标准	(58)
第八章 水肿	(59)
血管内外液体交换失衡在水肿发生中的作用	(59)
第九章 水、电解质代谢紊乱	(62)
第一节 豚鼠高钾血症	(62)
第二节 钙、钾浓度改变对蟾蜍心电图的影响	(63)
第十章 酸碱平衡紊乱	(65)
家兔酸碱平衡紊乱	(65)
第十一章 缺氧	(67)
小鼠不同类型的缺氧	(67)
第十二章 发热	(71)
第一节 小鼠发热状态下巨噬细胞吞噬功能的变化	(71)
第二节 家兔内生致热原性发热	(72)
第十三章 应激性损伤	(72)
冷拘束大鼠应激性溃疡	(74)
第十四章 休克	(76)
家兔失血性休克	(76)
第十五章 弥散性血管内凝血(DIC)	(82)
第一节 家兔急性 DIC 引起多器官功能衰竭	(82)
第二节 小鼠 DIC 发生后对止血功能的影响	(85)
第十六章 缺血 - 再灌注损伤	(87)
大鼠肾缺血 - 再灌注损伤	(87)
第十七章 细胞信号转导与疾病	(89)
细胞信号转导调控与疾病防治(设计型实验)	(89)
第十八章 细胞凋亡与疾病	(92)
体外热处理诱导肿瘤细胞凋亡后 DNA 的电泳分析	(92)
第十九章 肿瘤	(94)
第一节 γ 射线对小白鼠 DNA 和染色体的影响	(94)
第二节 小白鼠实验性肿瘤的移植	(95)
第二十章 心力衰竭	(97)
蟾蜍急性左心衰竭	(97)
第二十一章 呼吸功能不全	(100)
第一节 有机磷中毒导致大鼠呼吸中枢抑制	(100)

第二节 家兔急性呼吸功能不全	(101)
第二十二章 肝性脑病	(104)
氨在小鼠肝性脑病发病机制中的作用	(104)
第二十三章 肾功能衰竭	(106)
家兔急性肾功能衰竭	(106)

第三篇 Typical Experiment

Chapter 24 EXPERIMENTAL DESIGN	(111)
Chapter 25 EDEMA: EFFECTS OF BLOOD VESSEL FLUID IMBALANCE	(114)
Chapter 26 HYPOXIA	(118)
Chapter 27 RABBIT HEMORRHAGIC SHOCK	(123)
Chapter 28 ACUTE LEFT HEART FAILURE	(130)
Chapter 29 ACID BASE DISTURBANCES	(133)
Chapter 30 ACUTE RESPIRATORY FAILURE	(136)
Chapter 31 THE INFLUENCE OF DIC ON THE COAGULATING FUNCTION OF THE MOUSE	(139)
Chapter 32 THE PATHOGENESIS OF AMMONIA IN MOUSE HEPATIC ENCEPHALOPATHY	(141)
Chapter 33 CASE ANALYSIS	(143)

第四篇 病例分析

病例一	(149)
病例二	(149)
病例三	(150)
病例四	(151)
病例五	(152)
病例六	(153)
病例七	(154)
病例八	(155)
病例九	(156)

第五篇 科研入门篇

第三十四章 分子病理生理学实验技术简介	(161)
第一节 细胞培养技术简介	(161)
第二节 DNA 和 RNA 的提取	(166)
第三节 聚合酶链反应(PCR)技术	(168)
第四节 荧光显微镜技术简介	(172)

第五节	激光扫描共聚焦显微镜技术	(174)
第六节	原子力显微镜	(177)
第七节	流式细胞仪	(180)
第八节	基因载体构建和基因转染技术	(183)
第三十五章	利用 Excel 进行医学统计	(189)
第三十六章	医学论文写作与投稿	(192)
第一节	医学科研论文的写作	(192)
第二节	投稿的一般知识	(194)
附表		(196)

第一篇

病理生理学实验的基础知识 与基本技能

第一章 概 论

一、病理生理学实验课特点

病理生理学是一门研究疾病发生、发展和转归的医学基础理论学科。它从功能代谢的角度来揭示疾病的本质和发展规律,是沟通基础医学与临床医学的桥梁学科,其不仅具有很强的理论性,同时也具有很强的实验性。

由于疾病发生的原因和条件、疾病的发展和转归涉及诸多方面,如生物、理化、遗传、社会心理等,因此决定了病理生理学研究的复杂性与艰巨性。病理生理学实验的目的是通过一定的流行病学调查,了解疾病发生和分布的特点;通过周密的临床观察,在不损害病人健康的前提下,进行一些必要的临床实验研究;通过在动物身上复制人类疾病的模型,探讨那些不容许在人体进行的实验研究;通过人为地控制各种条件,从细胞学、分子生物学等方面探究生命与疾病之间的奥秘,从各个方面对机体的功能、代谢变化进行严密的动态观察,探索疾病发生、发展规律,并对复制的疾病模型进行探索性治疗。因而病理生理学实验研究的结果往往可以作为临床医学的重要借鉴和参考。病理生理学的大量研究成果,主要来自实验研究。

科学技术的发展不仅推动病理生理学的发展,也促进了研究人员对新技术的追求和掌握。对细胞学、生物遗传学、免疫学、分子生物学、网络通讯、微电子等技术的应用,是现代病理生理学实验课的新特点。

病理生理学教学实验主要是动物实验,细胞学技术和分子生物学技术正在逐步进入实验教学课堂。

二、病理生理学实验课的目的和任务

1. 培养能力 通过实验的具体操作和设计,使学生初步掌握在动物身上复制人类疾病模型的基本方法、病理生理学实验的基本操作技术、病理生理学文献检索与分析技术,培养学生结合新技术和新方法探索新课题的能力。

2. 验证知识 通过实验观察、记录和结果分析及通过文献检索和分析去验证、巩固并加深理解课堂讲授的理论知识,加强学生对病理生理学在现代医学中地位和作用的认识,进而获取新的认识和感受。

3. 奠定基础 培养学生严肃的科学态度、严谨的工作作风、严密的实验操作习惯,以及对客观现象进行观察、比较、分析、综合的能力,为未来的学习和工作打下基础。

三、病理生理实验课的要求

1. 提前预习 实验课前应预习实验指导,了解实验目的、方法和操作步骤,并复习有关理论知识,检索相关信息。

2. 检查器械 开始做实验前应检查器材、药品是否齐全,如有缺失、损坏应及时报告准备室老师,以便更换、补充。

3. 分工合作 实验小组成员应明确分工,同时又密切合作,使整个实验有条不紊地进行,并使每个同学都得到应有的技能训练机会。

4. 规范操作 实验中应认真听取老师的讲解,以严谨的工作作风,正规、准确地按实验指导指明的步骤进行操作,以实事求是的态度耐心、细致地观察实验中出现的每一现象、每一结果,并准确、及时、客观地加以记录。切忌马虎、敷衍和主观臆测。

5. 细致观察 在整个实验过程中要积极思考,联系理论,力求了解每一个实验步骤所出现的每一个现象的意义。

6. 爱护动物 尽量减少对动物的不必要刺激和损伤。急性动物实验做完后,应迅速无痛性处死实验动物。

7. 维护意识 爱护实验器材,注意节约药品。每次实验结束,认真清点药品和器械,器械擦洗干净后送回准备室。打扫、整理实验室。

8. 记录报告 实验后认真整理和分析实验结果,独立、按时完成实验报告。

四、实验报告的格式及内容

1. 实验题目 即所做实验的名称。

2. 实验目的 即实验对学生的要求及学生应通过本实验应掌握的知识。

3. 实验动物 包括种类、性别、体重。

4. 实验方法和步骤 简要写出主要的方法和步骤。

5. 实验结果 将原始记录系统化、条理化。可采用下述表达方式。

(1)叙述式 用文字将观察到的与实验目的有关的现象客观地加以描述,描述时应以各种现象发生的时间为序,并尽可能量化描述。

(2)表格式 最常用,能较为简明地反映观察内容,有利于相互对比,使结果一目了然。同学们可根据实验内容自己设计表格。表内各项的计量单位应注明。

(3)曲线式 实验中描记的血压、呼吸、心率等曲线可直接作为结果记录于实验报告中或将结果记在坐标内,而后连接曲线。曲线式最适合于某些功能变化的动态观察,能清楚地反映变化趋势。

6. 结果分析或讨论 分析要简明扼要,讨论应包括:①运用所学理论,讨论和解释实验现象和结果,论证实验目的;②对实验中出现的“异常现象”及实验结果提示的新问题也应加以分析。

7. 结论 将实验结果简明地总结出来。

(李 沛)

第二章 病理生理学实验对象的选择

医学科学研究根本目的是要解决人类疾病的预防和治疗问题。病理生理学的实验研究依据目的的不同,选择的对象有所不同。临床观察和社会调查以人为受试者,实验室研究多以动物或细胞株(系)为实验对象。

随着细胞学、遗传学、分子生物学的迅速发展,以及人们研究疾病技术的日益丰富,病理生理学研究的实验对象从实验动物、离体器官向细胞株(系)、细胞器、蛋白、核酸等方面拓展,形成了病理生理学多方位多层次的研究局面。了解病理生理学实验对象的选择与相关技术知识是每个医学生所必需的。

实验动物是根据科学研究的需要,有目的、有计划进行育种、繁殖和饲养的专供生物医学实验的动物。实验动物的选择应注意:①实验动物的种类、品种(品系)、质量和实验动物的健康状态;②选用与人的功能、代谢、结构及疾病特点相似的实验动物;③选用遗传背景明确、具有已知菌丛和模型性状显著且稳定的动物;④选择解剖、生理特点符合实验要求的动物;⑤选用存在某些特殊反应的动物;⑥选用人畜共患疾病的实验动物。

细胞株(系)是通过纯系法或选择法从原代培养细胞中分离出来的,具有特异性状或标志的细胞整体。细胞株(系)的选择应注意:①组织学来源和背景;②种属来源和背景;③细胞学性状与特点;④传代次数;⑤对实验因素的敏感性。

第一节 青蛙与蟾蜍

1. 特点 青蛙与蟾蜍均属两栖纲,无尾目。因蟾蜍的形体较大,因此在教学实验中更多的选用。

2. 使用 离体的蟾蜍心脏在适宜的条件下(保证湿润、氧气、能源底物和电解质供应),可自主有节奏地搏动10 h以上,可用于心功能不全的实验。但需注意其心脏(具有二个心房一个心室)结构与哺乳类动物有明显不同,在体心电图波形与人类也有差异。蟾蜍在冬眠时心脏搏动明显减弱,心率减慢。

从蟾蜍左主动脉的远心端,插入灌流管,从静脉窦插入液体流出管,改变影响组织液生成的一些因素,记录灌入与流出量,比较差值或在蟾蜍的背主动脉插入灌流管,横断脊背,仅保留带有灌流管的两下肢,通过称重法也可观测到局部水肿的一些影响因素。

蟾蜍有二肾,皮下注入升汞,通过组织吸收,再通过血液循环可引起肾小管重金属中毒性坏死,复制出急性肾功能不全的模型。

3. 操作

(1) 捉拿蟾蜍时用左手将其握住,以中指、无名指和小指压住其后肢,拇指和食指分别压住两前肢,右手进行其他操作。

(2) 捉拿时勿碰压耳侧的腺体,以防蟾酥射入眼,若不慎眼中沾有蟾酥应急速用干

净清水冲洗。

(3)为便于手术操作、观察和减轻动物痛苦,应在固定前从颈椎关节插入毁髓针,在椎管内往复抽动数次毁坏其脑脊髓。

第二节 小白鼠

1. 特点 小白鼠属于哺乳纲,啮齿目,鼠科。寿命2年,成年鼠体重20~50 g,生长快,饲料消耗少,温顺易捉,操作方便,可复制多种疾病模型。小白鼠有很多品系。常根据实验的目的不同而选择不同的品系。

2. 操作

(1)捉拿 小白鼠性温和,只要方法正确就不会被咬伤,不需戴手套捕捉,用右手轻抓鼠尾,提起置于鼠笼上,因鼠此时将爪紧抓笼壁杆上,可将鼠尾略向后拉,再用左手的拇指、食指和中指抓住小鼠两耳后项背部皮毛,以无名指及小指夹住鼠尾即可,左手翻转使鼠腹部朝上(图2-1(A)、图2-1(B))。此时可行腹腔注药或后腿侧皮下注射。

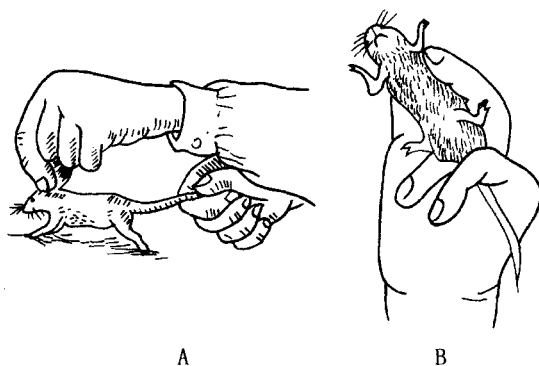


图2-1 小白鼠捉拿法

(2)注射 可行腹腔、皮下、肌肉、尾静脉注射药物。腹腔注射易行,给药吸收速度快(图2-2)。尾静脉给药需将动物固定在玻璃罩内并压住鼠尾根部,稍等片刻,选一侧尾静脉刺入。鼠尾有三根血管,正中为鼠动脉,两侧为鼠静脉,若刺入动脉拔针后有较多的出血。注射前先用酒精擦拭,轻轻弹打使血管扩张,以左手食指压住鼠尾,拇指和中指夹住尾巴末端,右手持注射器连4号细针头,从尾下1/4处进针。如针确已在静脉内,注射无阻力感,否则局部发白隆起。若未刺入静脉应拔出针头于前方静脉重新穿刺或选另一侧静脉穿刺(图2-3,图2-4)。尾静脉注射量一次不要超过500 μl 。

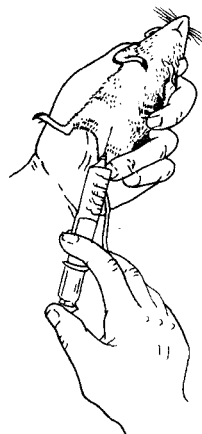


图2-2 小白鼠腹腔注射方法

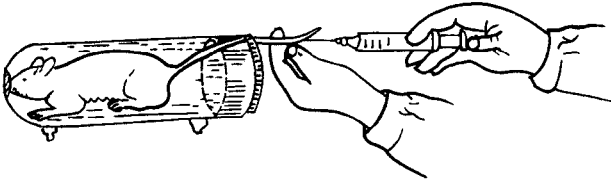


图 2-3 鼠尾静脉注射方法



图 2-4 鼠尾的横断面

(3)经口给药 按前述捉拿法左手持拿动物,使小白鼠腹部朝上,右手持灌胃器(自制,用1~2 ml 注射器连接磨钝头端略有弯曲的注射针头构成),先从鼠口角处插入口腔,以灌胃针头压其上腭,使口腔和食管成一直线后,再把针杆沿上腭缓缓送入食管,在稍有抵抗之处(此处相当于食管通过膈肌的部位),即可注入药液(图2-5)。如注入顺利,动物安静,呼吸无异常。如动物强烈挣扎,躁动不安,可能针头进入气管,须拔出重插,以免造成窒息死亡。一次投药量0.5 ml 左右。

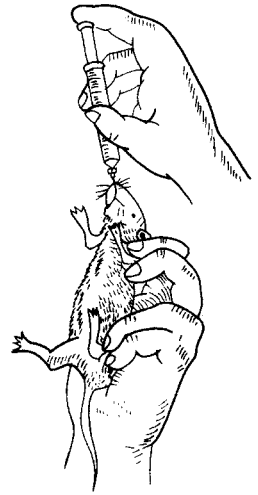


图 2-5 小白鼠灌胃方法

(4)取血 ①尾尖取血供反复小量采血用。少于20 μl 的血可直接用注射器或采血针选一侧静脉或动脉刺取。需较多的血可将动物麻醉,尾尖剪去1~2 mm,从尾根部向尾尖部按摩,血即从断端流出。采血前将鼠尾浸在45~50 $^{\circ}\text{C}$ 热水中使血管扩张,可取得较多的血。②眼球后静脉丛取血,用10 cm 长玻璃管,一端烧制拉成直径1~1.5 mm 的毛细管。用前将1%肝素溶液湿润管腔晾干。取血时左手抓住鼠二耳间的皮肤使头固定,轻按颈部两侧,阻止头部静脉回流,使眼球充分外突,球后静脉丛充血。右手将玻管尖插入内眦部,向眼底方向转插入4~5 mm 即切开球后静脉丛,血液自行流入管内,拔出玻管,放松左手,出血即停止,数分钟后可在同一穿刺孔重复取血。小鼠一次可采血0.2 ml(图2-6)。

(5)麻醉 一般用全身麻醉,多用吸入乙醚的方法。麻醉时将小鼠放在倒扣的烧杯内,内置浸有乙醚的棉球,待动物吸入乙醚软瘫时,即已麻醉。麻醉后需将小白鼠及时取出以免麻醉过深死亡。乙醚麻醉效应持续时间短,为维持麻醉可将浸有乙醚的棉球装入小瓶内,置于小白鼠的口鼻处以持续吸入乙醚。注射麻醉可行尾静脉或腹腔注射。全身麻醉后,如动物四肢松弛无力、卧倒不动、呼吸变深变慢,角膜反射迟钝,即表明动物已完全麻醉。

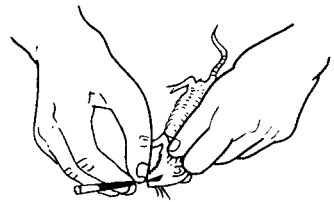


图 2-6 小白鼠球后静脉丛取血方法

3. 手术

(1)开胸 暴露心脏取血。

(2)开腹 行肝叶结扎,肠管插管灌注液体,行肾血管结扎。