山东大学<u>基础医学</u>学院 《 医学形态学融合实验 》实验课程教学大纲

编写人: 郭雨霁 邴鲁军 康敏 张晓芳

审定人: 郭雨霁

编制时间: 2019-05-15

审定时间:

一、课程基本信息

课程名称	形态学融合实验						
英文名称	Medical Morphological Experiments						
课程编码							
开课单位	基础医学院形态实验室						
实验类型	□专业基础实验 □专业实验 □√综合实验						
	□创新实验 □开放实验						
课程性质	□必修 □√选修						
实验类别	□ √ 独立设课 □非独立设课						
学分		总学时	28	实验学时	28		
适用专业	临床医学各学制						
先修课程							
课程网站							

二、课程描述

医学形态学融合性实验教学,将人体解剖学、组织胚胎学和病理解剖学三个相关学科的交叉内容进行有机整合,形成系统化的知识。《医学形态学融合实验》是以组织学、人体解剖学、病理解剖学为主的实验研究方法,学习人体正常与异常形态之间演变过程的一门综合课程,把一些验证性、演示性的实验内容部分改变为设计、操作性实验项目,在学生动手操作过程中,激发学生科学研究的热情,培养学生观察分析能力和独立思考的能力。

Medical morphological experiments integrate human anatomy, histoembryology and pathological anatomy and form systematic knowledge. We change some experimental contents of verification and demonstration into designing and operating experimental items, stimulating students'

enthusiasm for scientific research and developing the ability to observe, analyze and think independently.

三、课程性质和教学目标

【教学目标】

通过创新整合性实验的学习,使学生学会使用医学形态学实验常用的仪器,熟悉科研常用的技术方法,培养学生动手能力、提高学生利用所学知识解决实际问题的能力、启迪学生的科研思维和创新精神,以适应研究型大学培养人才的要求。

【教学要求】

- 1. 培养动手能力
- 2. 培养运用知识分析临床表现的能力
- 3. 加强实验动物伦理学观念
- 4. 培养科研思维和创新精神。

四、课程教学内容及学时分配

实验 1. 活体标本观察上皮细胞纤毛运动实验

【导言】

在固定切片垂直剖面上观察假复层纤毛柱状上皮,同学们看到只有柱状细胞和杯状细胞的游离端能达到腔面。可见柱状细胞的游离面有纤毛,杯状细胞浅染呈空泡状。以往观察纤毛是静态不动,本实验把固定切片标本改成活体标本观察,学生通过简单方便的操作方法取到活蟾蜍咽喉底部的组织,观察动态的上皮细胞纤毛规律的运动。让同学们思考纤毛运动对人体健康的意义。

【实验内容和实验步骤】

本实验动物选取蟾蜍 30 只。备用蛙笼、手术剪、镊子、脊髓穿刺针、光学 显微镜、无菌手套和生理盐水。

将活蟾蜍在温水中浸泡 3~4 小时,取出蟾蜍,持脊髓穿刺针从相当于其枕骨大孔处 (位于颅骨与脊柱中间凹陷处)垂直刺入,然后向前通过枕骨大孔刺入颅腔,左右搅动充分刺伤脑组织,然后将探针抽回至进针处 (注意不要全部拔出),再向后刺入椎管,反复上下刺伤脊髓,直致蟾蜍四肢松软,呼吸消失后,

将其固定在木板上。用镊子打开蟾蜍的空腔,充分暴露口腔咽部,取其活蟾蜍咽喉底部的组织从咽喉底部取出黏膜,剪成小薄片,置于载玻片上,滴加生理盐水,加盖玻片在镜下观察。

【实验结果观察】

镜下选择所取组织细胞的侧表面观察,可见许多纤毛在表面在有生理盐水的 条件下,清楚地看到纤毛像麦浪式的有规律地摆动。在稍暗的视野下观察效果较 好,纤毛呈现亮区,纤毛呈单向的节律性摆动。

【教师点评】

对学生的操作和实验结果点评,指出每个同学制做标本和观察的优缺点。

【学生作业】

每人写一篇实验报告,重点思考问题:

- 1) 纤毛为什么会运动?
- 2) 请举例在什么情况下纤毛易受到损伤? 损伤后与哪些疾病相关?

实验 2. 受精蛋孵化 72 小时对心血管形态学观察

【导言】

在发育生物学的研究中,鸡胚发育的过程已有较清楚的了解和认识。受精鸡蛋在体内时就已开始发育,但蛋产后由于外界环境的温度较低,受精蛋发育受阻暂处于休眠状态。本实验采用二氧化氮温箱孵化,温度和氧含量适宜,受精蛋即启动继续发育。鸡受精蛋进入温箱入孵化的最初24小时即发生了若干胚胎发育过程,比如,胚胎血管与卵黄囊血管发生了连接,血液循环开始;在胚盘的边缘发生了许多红点,出现"血岛"。当心脏发育至72小时的时候,心血管系统迅速发育,可以看到心脏有规律、强有力的跳动。通过本实验实际观察,使学生思考人体胚胎学心血管发生与发育规律。

【实验内容和方法】

本实验选取受精鸡蛋 60 枚。备用二氧化氮温箱、唐瓷碗 (内盛温水)、弯头和直头小剪刀各 1 把、尖头手术镊子 2 把、吸管 3 支、培养皿 (中等大) 1 付、称量瓶数个 (内盛包音氏液)、组织切片所需设备。

将受精鸡蛋注明日期和时间,置入二氧化氮温箱 72 小时。其温度保持在

37℃~ 37.5℃之间,温箱内放半杯水,以保持适当之湿度。取已孵化的鸡蛋,置入温水内轻轻滚动,待其自由静止时,胚盘即位于上部,在温水中用尖镊子将露出水面之蛋壳轻轻击破,用镊子剥去卵壳,使全部胚盘露出。用弯头剪刀沿圆形胚盘边缘剪一圆圈 (为防止蛋白滚动,胚盘反转,可用吸管将蛋白吸出一部分),用尖镊子将胚盘移至培养皿内,生理盐水洗数次,并将胚盘下面粘连之卵黄及胚上的卵黄膜在盐水中摆脱。用吸管将盐水吸出,胚盘平贴在培养皿底上,滴包音氏液固定。

【实验观察】

受精蛋硬蛋壳去除后,可以观察到胚盘椭圆形 (图示 3-17-1),呈红色,直径约 2.5cm 大小。在圆盘中央可见鲜红色区域即心脏(图示 3-17-2),约为 0.2~0.3cm 大小,可见心脏形态不断的变化 (心脏跳动时可见瞬间的大小变化),呈现规则的收缩和舒张。还可以看到与心脏相连的血管很细,呈现放放射状红色细线状,将心脏围在中央。

【教师点评】

对学生的操作和实验结果点评,指出每个同学制做标本和观察的优缺点。

【学生作业】

每人写一篇实验报告,重点思考问题:

- 1) 人胚的心脏是怎样发生的?
- 2) 有哪些因素能导致心脏发生畸形?

实验 3 急性肾脏缺血的形态学观察实验

【导言】

剖开肾脏,从纵切面看到了肾实质可分内外两层:外层呈深红色为皮质,内层颜色较浅为髓质。肾的基本组成和功能单位称为肾单位。每个肾单位由肾小体和肾小管组成。肾小体内有一个毛细血管团,称为肾小球,它由肾动脉分支形成。肾小球外有肾小囊包绕。肾小囊分两层,两层之间有囊腔与肾小管的管腔相通。肾小囊内层由足细胞构成,其相邻足细胞的次级突起之间形成的裂孔膜紧贴于毛细血管壁上,与毛细血管的内皮和基膜共同组成滤过膜。肾小管可分为三段:近端小管、远端小管和细段,肾小管汇成集合管,若干集合管汇合成乳头管,尿液由此流入肾小盏和肾大盏在汇入肾盂,然后尿液排出肾脏。肾脏形成尿液形成和

对水-电解质的调节起到了重要作用。

【实验内容】

本实验选取家兔。兔笼、兔台、手术器械(手术刀、小剪刀、镊子、弯和直止血钳)、动脉夹、5ml 注射器、纱布、缝合针线以及 20%乌拉坦、生理盐水和制作切片的系列仪器。 术前家兔 24 小时禁食。称重,以 20%乌拉坦 4ml/kg 静脉麻醉。将家兔固定在兔台上,剪掉腹部皮肤的毛。腹部偏左纵行切开皮肤,切口长约定 4-5cm,分离皮下软组织及肌肉,切开腹膜,进入腹腔,将腹腔脏器推向右侧,暴露左肾及左肾蒂,分离左肾动脉,将动脉夹轻轻挟住左肾动脉,持续 1 小时 (期间浸透生理盐水的纱布缚在切口处)。然后将动脉夹取下,缝合腹膜、肌层及皮肤。2-4 小时和 6-8 小时后将动物处死,分别取下左右肾脏,常规固定、切片,HE 染色。

【实验观察】

大体观察发现左肾动脉血流被阻断后,肾脏颜色立即变浅失去光泽,肾脏较肿大,切面课可见皮质肿胀,苍白,髓质颜色较深,充血水肿。旧切片镜下观察肾小管上皮细胞水肿,体积增大,边界不清,胞浆淡染透亮或呈颗粒状,管腔狭窄而不规则或消失。上述改变尤以近曲小管为重,肾小球变化较小。间质发生充血。

5. 发病机理 由于血液中断或显著减少,使肾组织严重缺氧。缺氧可破坏细胞的有氧呼吸,损害线粒体的氧化磷酸化,使 ATP 产生减少,甚至停止。细胞能量的供应不足,细胞膜上的钠泵受损,而使细胞内水分增加,形成细胞水肿。

【教师点评】

对学生的操作和实验结果点评,指出每个同学制做标本和观察的优缺点。

【学生作业】

每人写一篇实验报告,重点思考问题:

- 1)通过本实验思考尿液形成过程中的过滤与重吸收。
- 2) 试述由于肾脏缺血的原因能对全身造成什么障碍?

实验 4. 急性肺淤血的形态学观察

【导言】

肺内的血液循环来自两个来源即: 肺动脉和支气管动脉。肺动脉从右心室发

出,至肺门入肺,其分支与各级支气管伴行直至肺泡隔内形成毛细血管网。毛细血管内血液与肺泡进行气体交换后,汇成小静脉,小静脉走行于肺小叶的结缔组织内,不与肺动脉的分支伴行,汇集成较大的静脉与支气管的分支、肺动脉的分支伴行,最终汇合成肺静脉经肺门出肺入心脏的左心房。支气管动脉发自胸主动脉或肋间动脉,与支气管伴行入肺,沿途在肺内各段支气管管壁内分支形成毛细血管网,支气管动脉的终末分支主要分布在呼吸性细支气管的周围,部分分支形成肺泡隔内毛细血管网;支气管动脉在支气管管壁内的分支形成的毛细血管网,一部分汇入肺静脉,另一部分则形成支气管静脉,与支气管伴行经肺门出肺。本实验观察机体在肺静脉受压(实施肺静脉结扎术)后急性肺淤血的形态学改变。

【实验内容】 本实验选取小白鼠。备用鼠笼、注射器 (1 毫升); 手术刀、手术钳、解剖镊、结扎线; 制作切片的系列仪器和设备以及 2%戊巴比妥。

将小鼠分 A 组与 B 组。2%戊巴比妥由小鼠尾静脉注入约 0.5ml 进行麻醉, 观察小鼠反应。待小鼠失去知觉后,打开胸腔,(小鼠肺脏有 5 叶。左侧 1 叶,右侧 4 叶)分离出单侧肺静脉,给予结扎,注意请勿扎紧,允许少量血液通过。分别在 2 小时(A 鼠)、24 小时(B 鼠)进行观察。

【实验观察】

大体观察可见肺组织肿胀、体积增大,呈暗红色,包膜紧张,重量增加,切面湿润、见有暗红色血液流出。B 鼠肺组织变化更加明显。HE 切片镜下观察,肺泡壁增厚,毛细血管和小静脉明显扩张淤血,肺泡腔内有少量漏出的水肿液和红细胞、巨噬细胞。在 B 鼠的肺泡腔内可明显的看到棕褐色的、体积较大的心力衰竭细胞。当肺静脉受压 (半结扎状态)后,肺静脉输出受阻,致使大量的静脉血滞留于肺内,形成肺淤血,导致肺静脉和毛细血管内压增高,使大量液体和细胞漏出到肺泡腔内。漏出的巨噬细胞吞噬红细胞并将其分解,在胞浆内形成含铁血黄素,使细胞呈棕褐色。

6. 思考题

- 1) 何为心力衰竭细胞?
- 2) 肺淤血时肺形态发生哪些改变?
- 3)请你想一想,肺淤血时对心脏有何影响?

实验 5. 小鼠胚泡获取技术与形态学观察

【导言】

小鼠的早期胚是研究哺乳动物以及人类早期发生常用的实验材料。当小鼠妊娠 96 小时 (约受精后第四天),胚内出现一些小腔隙并逐渐汇合成一个大腔,整个胚呈现为囊泡状,即为胚泡。胚泡中心的腔称为胚泡腔,胚泡腔的壁为滋养层,由单层细胞构成。位于滋养层内一侧的一群细胞,称内细胞群。本实验选取妊娠 96 小时鼠,通过胚胎的获取与形态学观察,使同学们更加深刻和直观的了解胚泡的的结构,掌握相关胚胎发育的知识。

【实验内容】 本实验选取妊娠 4 天小鼠。备用剪刀,镊子、注射器、培养皿以及生理盐水。

取妊娠第四天的供胚鼠,在腹部中央横剪一小口 (0.5cm 宽),将两边皮肤肌肉沿切口部剪开,暴露腹部器官;用剪刀和镊子除去卵巢、输卵管和子宫周围的脂肪组织,取出子宫 (图 3-20-1),置于盛有培养液的表面皿中。在解剖镜下找到输卵管壶腹部,用镊子撕开一小口,用冲洗法收集囊胚。方法是:在解剖镜下找到输卵管喇叭口,可以用小玻璃探针帮助,将吸有冲卵液的注射器针头对准喇叭口,右手用小镊子轻轻将喇叭口套在针头上,套进约 1mm 即可,并用镊子把管口轻轻夹住;左手轻推注射器冲洗即可将输卵管中的囊胚冲出。 在解剖显微镜下挑选内细胞团和胚泡腔明显的胚泡进行形态学观察。 【实验结果观察】

显微镜下可以观察到: 胚泡由三部分构成即①滋养层②胚泡腔③内细胞群。 胚泡整个胚呈现为囊泡状,即为胚泡。中央的腔称胚泡腔,位于表面的单层细胞构成胚泡壁,称滋养层。胚内部的一团细胞位于胚泡腔的一侧, 称为内细胞群。

【教师点评】

教师对胚泡的结构、胚泡的形成、胚泡的植入过程以及子宫内膜的改变进行点评。

【学生作业】

写出实验报告,对课题相关内容和存在的问题进行综述,结合胚胎学知识提出自己的观点。

实验 6 两栖类肠系膜血管的形态学与变态反应实验

【概述】 以往学习组织学观察肠系膜血管切片都是固定静止的。本实验改变了实验方法,利用蟾蜍 (或青蛙)的肠系膜制作活体标本,观察肠系膜血管内血液流动和外源组胺致肠系膜血管的应急反应,血管扩张血流变慢,轴流(血细胞流)变宽,轴流与边流 (血浆流)界限消失等现象。许多组织,特别肺和胃肠等消化管道的肥大细胞中含有大量的组织胺。当组织受到损伤或发生炎症和过敏反应时,都可释放组胺。组胺有很强的舒血管作用,并能使微小血管的管壁通透性增加,导致局部组织水肿。

【实验内容和实验步骤】

本实验动物选取蟾蜍 30 只。备用蛙解剖台或搪瓷盘,探针,剪刀,镊子, 大头针,图钉,棉球,显微镜和 0.2%组织胺。

取蟾蜍置于搪瓷盘或蛙解剖台,呈仰卧位。沿腹侧壁剪开腹壁,切口长约 1.0cm。打开腹腔,用镊子轻轻拉出小肠袢,将肠袢连接的肠系膜展开铺在搪瓷盘上,肠系膜连带肠袢一起剪下大约 1~1.5cm 大小的组织快 (图示 2-9-1)。特别注意要轻轻拉动肠袢,切忌拉的过紧或撕破肠系膜以防影响血液循环,取出肠绊组织将肠系膜轻轻展平铺在拨片上。另外,要注意观察时间在 15~20 分钟之内。

2、实验观察

在低倍镜下选有血管的视野,观察蟾蜍肠系膜血管的血管管径,血流速度及血流情况,可以明显区别轴流即血球层、边流即血浆层 (图 2-9-3)现象。当在肠系膜上滴加 1-2 滴的组胺后再继续观察,可在镜下观察到蟾蜍肠系膜血管发生扩张,血流逐渐变慢,轴流与边流的界限消失。

- 3、思考题
- 1) 在实验中滴加了组织胺后导致肠系膜血管形态变化的的机制是什么。
- 2) 想一想,今天的实验与荨麻疹发生有何关系?

实验 7. 长骨离断后纤维性骨痂形成的形态学观察

【概述】 骨发生在骨愈合中的概览。大约在骨折后的 2~3 天,从骨内膜及骨外膜增生的成纤维细胞及新生毛细血管进入血肿,继而发生纤维化,血肿开始机化。上述增生的组织逐渐弥合,填充并桥接了骨折的断端,形成纤维性

骨痂,或称暂时性骨痂。肉眼观察,骨折局部呈梭形肿胀。约经 1 周左右,上述增生的肉芽组织及纤维组织部分可进一步分化,形成透明软骨。透明软骨的形成一般多见于骨外膜的骨痂区,而少见于骨髓内骨痂区,可能与前者血液供应较缺乏有关。此外,也与骨折断端的活动度及承受应力有关。但当骨痂内有过多的软骨形成时会延缓骨折的愈合时间。成骨细胞产生新生骨质逐渐取代上述纤维性骨痂。开始形成的骨质为类骨组织,以后发生钙盐沉着,形成骨性骨痂。纤维性骨痂内的软骨组织,与骨发育时的软骨成骨一样,发生钙盐沉着而演变为骨组织,参与骨性骨痂的形成。此时所形成的骨痂,由于其结构不够致密,骨小梁排列比较紊乱,故仍达不到正常功能需要,要经骨痂改建或再塑。上述骨痂建成后,使骨折的断端仅被幼稚的、排列不规则的骨痂连接起来。为了符合人体生理要求而具有更牢固的结构和功能,骨痂进一步改建成为成熟的板层骨,皮质骨和髓腔的正常关系也重新恢复。改建是在破骨细胞的骨质吸收及成骨细胞新骨质形成的协调作用下进行的。

【实验内容和实验步骤】

本实验应用成年家兔。备用兔笼、兔台、手术器械 (手术刀、剪刀、镊子、弯和直止血钳)、缝合针线、无菌洞巾和 3%戊巴比妥钠 1m1/kg, 生理盐水, 庆大霉素注射液。

术前家兔称重。将家兔左前肢毛剪干净,以 3%戊巴比妥钠 (1m1/kg) 耳缘静脉缓慢注射麻醉。碘酒消毒手术区,铺盖无菌洞巾。在无菌条件下,沿左桡骨前外侧纵行切开皮肤,钝性分开肌肉暴露出桡骨中上 1/3 骨干,切开骨膜,注意保护两侧软组织。用电锯将桡骨干中上 1/3 处锯开成完全断离状,两断端间最好留 2mm 左右缺损。用生理盐水冲洗后,逐层缝合。无需固定及包扎,伤口表面可用庆大霉素涂擦。

术后家兔分笼喂养随机编号,按照手术小组为单位,学生参加护理小组认真护理家兔,观察,记录。于术后一周后再回课堂实验取材。

4)取材手术过程同前。动手无菌取出骨折愈合处的纤维骨痂,固定于甲醛液瓶,待切片,染色,观察。

【实验观察】

1) 大体观察 在骨折的两断端处周围组织间形成血肿,呈梭形膨大,切面暗

红色,含血液量较多。在血液凝固处可见将两断端由软组织连接起来。

2) 镜下观察 可见骨内膜及骨外膜的成纤维细胞出现渐增趋势至大量增生, 新生的毛细血管密度加大,组成含有成骨细胞的肉芽组织将血肿逐渐机化,可 见发生了纤维化将骨折两端连接起来,质软,不牢固,此即纤维性骨痂。

因骨内膜、骨外膜和骨组织以及骨髓都富含血管,骨折后常伴有大量出血,在骨断端及其周围形成血肿。2-3 天后,骨内膜及骨外膜的成为纤维细胞增生,生成新的结缔组织纤维和结缔组织基质伴随形成的新生毛细血管与富含成骨细胞的肉芽组织长入血肿中将其机化。新生的肉芽组织填充并连接骨折断端,之后发生纤维化。

5. 思考题

- 1)纤维性骨痂形成的机制。
- 2) 纤维性骨痂在骨折愈合过程中作用是什么?
- 3) 同龄人的骨折愈合过程一定相同吗?为什么?

五、每年更新实验项目

(按照教育部实验教学要求,每年实验教学更新项目不少于20%)

六、实验教学要求对应关系

	1. 培养动	2. 培养运	3. 培养科	4. 培养创
	手能力	用知识分	研思维能	新思维能
		析现象的	カ	力
		能力		
实验一	X		X	
实验二	X	X		
实验三			X	X
实验四		X	X	X
实验五	X		X	
实验六			X	X
实验七	X		X	X

七、考核及成绩评定方式

【考核内容】预习+操作+结果+报告

【成绩评定】日常实验占30%,实验报告占70%

八、教材及参考书目

- 1.《医学形态学实验》 (第二版) 高英茂 主编 科学出版社 2013 年 1 月
- 2.《形态实验学教程》 马保华 主编 山东大学出版社 2005 年 3 月