

动物实验伦理审查表

编号： JZYLZ20130216

申请人	史 斌		
单 位	研究生管理大队	电话	15811551173
课题名称	+Gz 重复暴露对大鼠肝脏病理生理功能的影响及防护的实验研究		
课题类别 (包括项目来源和 项目名称)	国家级课题： 省、部级课题： 军队课题：全军医学科研“十二五”重点资助项目（BWS11J029） 院级课题： 其它课题：		

研究内容 (500 字内)	针对空勤人员工作环境的特殊性，开展高+Gz 加速度飞行航空生理环境对空勤人员的肝脏功能的影响机制进行研究，对航空生理环境下的肝脏功能异常科学评定和分级、并进行有效的研究。研究内容包括：1. 建立模拟飞行高+Gz 加速度环境航空生理动物模型，记录不同高+Gz 加速度值时大鼠肝功（ALT、AST）指标的变化情况、氧化应激损伤情况（肝脏组织内丙二醛 MDA）、大鼠肝脏能量代谢情况（Na ⁺ -K ⁺ -ATP 酶的活性含量）、大鼠肝细胞损伤的组织病理学观察（苏木精-伊红 HE 染色）、大鼠肝组织 ATP 含量、A20mRNA、髓过氧化物酶含量以及 P-JNK、P-ERK 及 P-p38 的检测，对航空环境条件下肝脏功能的损伤进行分级评定。2. 阐明高+Gz 加速度环境下导致肝脏功能异常的发生机制，以便提出符合空勤要求的防护措施。
实验动物伦理审查：	
研究的目的是使用动物的必要性（简单描述研究的目的，和该研究对人类，动物或科学发展的贡献） 目的：通过建立模拟航空环境下高+Gz 加速度实验动物模型，对实验动物肝脏损伤情况进行动态检测分析，探讨高+Gz 加速度对动物肝脏功能损伤的发生机制，以解决航空生理条件下肝胆系统功能损伤方面的问题。 意义：1. 以实验动物数据为依据提出相应的符合空勤要求的防护措施； 2. 为航空环境下空勤人员肝脏功能异常的防治提供实验依据。	
主要研究方法与技术路线：	
1. 动物模型建立 1.1 动物分组 选用健康雄性 Wister 大鼠，体重 250～300g，清洁级，饲养条件符合 SPF 标准，由军事医学科学院实验动物中心提供。领回后先饲养 1wk，使其适应实验环境。选择健康雄性 Wister 大鼠 72 只完全随机化方法（即应用操作计算器的随机数字）分为三组，即：假手术组、+6Gz 暴露组和+12Gz 暴露组，每组 24 只。	

1.2 高+Gz 加速度模型的建立 采用动物离心机进行+Gz 暴露，动物离心机的半径为 2m，可模拟的正加速度范围为+1~+12 Gz，由计算机进行加速度程序控制。利用自制的有机玻璃盒（容积为 15cm×5cm×3cm）承载大鼠，并水平固定于离心机的转臂上，大鼠头部朝向离心机旋转轴心。+Gz 组大鼠 G 值暴露水平分别为+6Gz、+12Gz，峰值作用时间为 5min，加速度增长率为 1Gz，连续 5 次，每次间隔 5 分钟，分别于重复暴露的即刻、6h 和 24h 取肝脏标本，每个时间点 8 只老鼠。对照组大鼠仅放置于有机玻璃盒中 3min，不进行+Gz 暴露。

所有试验时间为每天上午 8: 00~12:00，在同一环境相似的条件下进行。

2. 观察指标

2.1 不同高+Gz 加速度暴露下肝脏功能的变化情况

血清转氨酶的变化被普遍用以评估肝细胞损伤程度，本实验测量生长终点时 ALT、AST 的数值。收取血液标本方法：开腹后从肝下下腔静脉抽取血液标本 2ml。

2.2 不同高+Gz 加速度暴露下肝脏氧化应激情况

氧化应激损伤通过测量肝组织内丙二醛（MDA）含量来评价。肝组织 MDA 含量的升高程度，能反映氧自由基对机体的损伤程度。收集方法：实验结束后切取大鼠左外叶，以生理盐水反复冲洗 3 次，置于液氮罐中。集中收集后用锡箔纸包裹置于-70℃冰箱保存。

2.3 不同高+Gz 加速度暴露下对肝细胞能量代谢影响的评估

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶存在于组织细胞及细胞器膜上，是生物膜上的一种蛋白质，它在物质的运送能量转换以及信息传递等方面具有重要作用。

2.4 肝细胞损伤程度的组织病理学观察

苏木精-伊红 HE 染色，采用光镜观察肝组织病理形态学变化。

2.5 肝组织 ATP 含量

组织 ATP 含量参照 Kimmich 方法测定。

3. 所有数据使用 SPSS10.0 统计学软件进行处理。测值以均数±标准差表示，均数间比较采用随机区组资料的方差分析， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

课题负责人承诺：

1 本课题成员在实验过程中遵守实验动物伦理原则，关注动物福利，爱护动物，尽可能减少对动物的损害。

2.遵守动物中心为保障实验动物饲养环境质量而建立的各项规章制度。

课题申请人签字 史斌

医学伦理委员会
审查意见

审查通过

中国人民解放军总医院医学伦理委员会

2013 年 2 月 23 日