

离体灌流蟾蜍心脏单心室肌细胞动作电位记录*

唐朝克 彭为民 杨永宗 龙玲

(衡阳医学院生理学教研室,衡阳市 421001)

摘要 本文采用悬浮式玻璃微电极记录了离体的灌流的蟾蜍心脏动作电位。这种方法既保持心脏的完整性,又易快速清除心脏里的药物。本文记录了 25 只正常蟾蜍心脏动作电位,效果令人满意。另外,还观察了几种药物及离子对蟾蜍心室肌单个细胞动作电位的影响,结果也很好。

在引导心肌细胞动作电位时,以前的报道中,一些实验^[3,5,7]是采用离体心肌组织进行的,这样破坏了心脏的完整性;而另一些虽是采用在体^[1,4,8]进行,保持了心脏的完整性,但观察药物对心脏的影响时,药物不易快速清除。为此采取了离体灌流的心脏进行实验,这样既保持心脏的完整性,又易快速清除心脏里的药物。兹将本方法介绍如下:

(一)材料和方法 蟾蜍、SBR-I 型双线示波器、JSD-731-C 型刺激器、JSD-731-G 型输出隔离器、示波器照相机、WSQ-A 型微量输液器、VDF 型微电极放大器,内充 3Mkcl 的悬浮式玻璃微电极。

于 1988—1990 年间,用刺蛙针刺毁蟾蜍脑脊髓,仰卧于蛙板上,剖胸后用小镊子夹起

心包膜,沿心轴剪开心包膜,暴露心脏,在左主动脉干下穿过一线留作固定插管用,用眼科剪在左主动脉干剪一斜切口,将一小塑料插管自切口插入动脉干内,在心室收缩时,向前并略向左推动插管,便可比较顺利地插入心室,然后结扎插管。在插管之前将塑料插管接微量输液器的输出口,微量输液器的输入口放入装有任氏液的烧杯中,并开动微量输液器,使塑料插管经常有少量任氏液流出。

提起插管,剪断左右侧分支,前后腔静脉等,将心脏摘出放入肌槽中,并固定塑料插管于肌槽上。

* 本文承蒙湖南师范大学生物系沈猷慧教授指导,特此致谢

将浮置电极插入心室肌细胞内,通过VDF型微电极放大器输至SBR-I型双线示波器,即可在示波屏上观察到心室肌的单个细胞动作电位,并用示波器照相机进行拍照。在测量有效不应期时,由JSD-731-C型刺激器经隔离器输出双脉冲^[6]刺激心脏来测量有效不应期。仪器连接方式(见图1)。

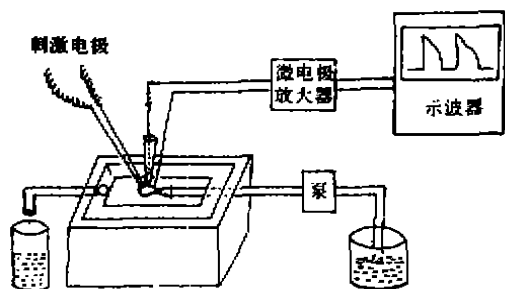


图1 离体灌流蟾蜍心脏单个心室肌细胞动作电位记录装置示意图

(二)结果与讨论 25只实验蟾蜍记录图形清晰(见图2)。

另外,我们还观察了几种药物及离子如普鲁卡因胺、肌苷、硫酸镁、硫酸锌、亚硒酸钠等对蟾蜍心室肌单个细胞动作电位的影响,效果都比较满意。



图2 离体灌流蟾蜍心脏单个心室肌细胞的动作电位

蟾蜍心脏在离体灌流的情况下,可以自动地有节律地兴奋跳动数小时,因此可有足够的时间进行实验研究。此方法在药物对心脏发生明显的作用之后,就可以用无药的任氏液迅速灌流,清除心脏内的药物,然后观察心肌恢复后的情况,在比较短的时间内,便可观察到

心肌从正常到受药物影响及去药后恢复正常的全过程。如果进行在体实验,把药物注入血管内,要等药物在体内自行排除后才能观察去药后恢复正常的情况,而且药物在体内不易在短时间内全部排除。假如用部分心肌组织进行灌流实验,则观察不到药物对整个心脏的影响。而本文方法基本上解决了以上的问题,但还存在一些缺点。由于采用悬浮式玻璃微电极进行记录,所以电极必须尽可能呈垂直式向下,被测心脏须处于水平位置,这样才有可能使电极插入细胞内,并且电极在细胞内维持的时间不能太久,^[2]因此有待于今后对此方法进一步改进。

参 考 文 献

- 1 陈万春 陈如乔 黄炎等 1988 硫酸镁对在体豚鼠左心室动作电位及心电图效应的研究。心电学杂志,7(1): 60-62.
- 2 徐有秋 1986 心肌细胞电活动的离子流基础。心电学杂志,5(3):181-186.
- 3 Craig T. January Janet M. R. Odle and Joseph J. Salata. 1988 A model for early afterdepolarization; induction with the Ca^{2+} channel agonist Bay K 8644. *Circulation Research* 62:563-571.
- 4 Eugene Downar M. D. Michiel J. Janse M. D. and M. D. Dirk Durrer 1977 The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation*. 55(2):217-224.
- 5 Hideru Hyashi Chris Ponnambalam and F. Terence McDonald. 1987 Arrhythmic activity in reoxygenated guinea pig papillary muscle and ventricular cells. *Circulation Research* 61:124-133.
- 6 Hoffman B. F. 1957 Refractoriness in cardiac muscle. *Am. J. Physiol* 190:473.
- 7 Toshifumi Watarabe Jeanne M. Delbridge J. Omar Bustamante, et al. 1983 Heterogeneity of the action potential in isolated rat ventricular myocytes and tissue. *Circulation Research* 62:280-290.
- 8 Toshio A and F. Serrino. 1979 Intracellular recording from beating heart in situ using a special microplette holder. *Am. J. Physiol* 237:397.