

PGI₂ 和 TXA₂ 的量。同时观察 15 Gy γ 射线辐照前后的差别,以探索辐射损伤出血的原因。

实验结果表明,在辐射后 32 小时中 TXA₂ 上升, PGI₂ 下降。正常组 PGI₂ 分泌量为 TXA₂ 的 6 倍。在血液内皮界面保持以 PGI₂ 为优势的平衡状态。 γ -射线照射能激活内皮细胞中的环氧化酶和血栓素合成酶破坏这一平衡,使 TXA₂ 的量增加,促使血小板在内皮细胞表面粘附聚集并释放平滑肌增殖因子,导致血管内皮细胞损伤,从而造成出血。

参 考 文 献

[1] [苏] T. K 扎拉克扬,急性放射病出血综合征,原子能出版社,上海。pp 46~52,

82—108, 1983。

[2] Macarak, E. J., 1977, *Lab Invest.*, 36 : 62—67.

[3] Hymie L., Nossel Henry J. Voger, 1982 In *Pathobiology of The Endothelial Cell* pp. 253—306, Academic Press, N Y.

[4] Ingeman, C., 1981, *J. Clin Invest.*, 67: 1292—1296.

[5] 盛民立等, 1987, 上海医科大学学报, 14 (1):71—74

[6] Jaffe, E. A. et al., 1973, *J. Clin. Invest.* 52:2745—2756.

[7] Allen, J. B., 1981, *Lancet*, 2:1193—1195.

[8] Mitchell, Friedman, 1986, *Radiation Research* 106:171—181.

[9] Moncada, S., 1979, *N. Engl. J. Med.*, 300:1142—1147.

实验技术

双光电描记体外培养心肌细胞搏动的方法*

冯 鸣 国

(江西省医学科学研究所)

程 建 云

(邮电部五四 0 厂)

体外培养的心肌细胞能维持正常心肌细胞所具有的结构和功能特点,利用它可以从小细胞水平,进一步从分子水平研究心肌的结构、功能及能量代谢。自发性、节律性搏动是体外培养心肌细胞的重要特征,是反映细胞功能的一项主要观察指标,已经广泛应用于细胞学、药理学、生理生化学等领域的研究中。应用连续拍摄电影、闭路电视和微电极的方法^[1,2],虽可完好地显示出细胞搏动变化,但过于复杂,且成本高;采用单光道光电换能^[3-5],仅能对单一细胞(簇)进行描记。本文报道一种新的培养心肌细胞搏动多细胞(簇)同步光电描记方法,能同时描记出同一视野不同细胞的搏动变化,并能反映出心肌细胞间的功能联系。

* 本方法已在第 5 届亚太地区药理学家会议上报告。

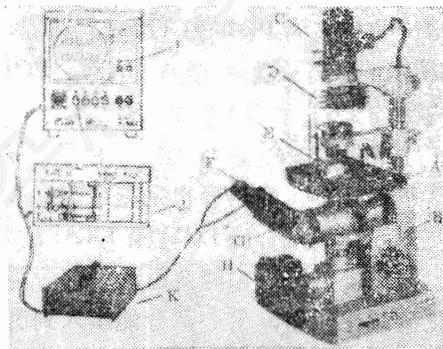


图 1 实验装置简图

A. 物镜 B. 调节手轮 C. 显微镜光源 D. 滤色片 E. 培养瓶 F. 光电换能器 G. 光栅 H. 照相机 I. 双线示波器 J. 多导生理记录仪 K. 放大器

一、装置与原理

本系统如图 1 所示,由光学、光电换能、

放大、记录监视几部分组成。心肌细胞收缩时,其大小及厚度发生变化,从而使显微镜光路中的光通量发生相应变化,不同心肌细胞搏动引起的光变化,分别经不同光通道及各自光栅调节后,被两接受光面积较大的光敏元件所接收而产生光电效应,由光信号转换成相应变化的微弱电信号经微电流放大器放大及滤波器滤除干扰信号,最后由生理多导记录仪(或同时显示在示波器上)描记出多心肌细胞(簇)搏动图,得出不同心肌细胞搏动频率、节律、幅度等反映心肌细胞功能的重要参数。

1. 光学部分 1. 显微镜 各种类型的双筒倒置显微镜均可应用。本装置采用XSZ-D型倒置生物显微镜(重庆光学仪器厂)。2. 光源 显微镜光源为6伏、15瓦钨丝灯泡,采

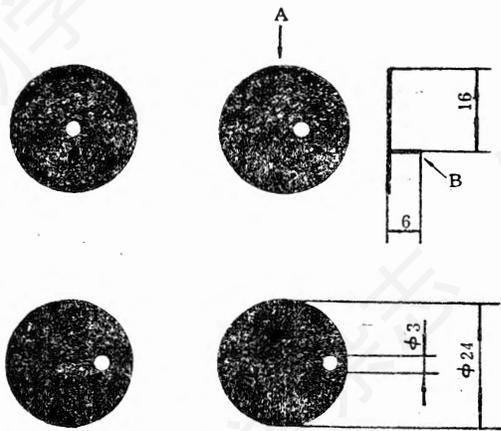


图2 目镜光栅(单位: mm)

A. 光栅 B. 调节板

用直流稳压电源供电,以确保记录基线的平稳。3. 光栅 如图2所示,用不透光厚黑纸作4个如目镜筒内径相等的圆纸片,再在每一圆片上剪出一3 mm直径圆孔,各圆片上的圆孔位置互不相同,从圆心到圆周等距离剪出。(按同法还可制作几组2 mm、3.5 mm、4 mm直径圆孔的光栅以供观察时选用)。在圆片上粘上调节板,供镊子调节。将光栅片放入目镜筒底部。光栅可框住要测试的细胞(簇),避免细胞周围背景光线的干扰。

2. 光电换能器 选用接受光面积较大的光敏元件,我们采用2CR 62型光电池(北京光电器件厂)接收经物镜放大的心肌细胞搏动光通量变化,产生相应的微弱电信号。将光电池装在旧目镜的前端(或仿做同样口径、长度的圆筒前端)。

3. 放大器 选用具有良好信噪比、较低的零点飘移、高输入阻抗高放大倍数的F007CY型通用运算放大器(济南半导体元件实验所),主要技术特性:电参数($T_A = 25^\circ\text{C}$, $V_{\pm} = \pm 15\text{V}$):输入失调电压 $\leq 2\text{mV}$;输入失调电流 $\leq 100\text{nA}$;输入偏置电流 $\leq 300\text{nA}$;开环电压增益 $\geq 94\text{dB}$;最大输出幅度 $\geq \pm 12\text{V}$;静态功耗 $\leq 120\text{mW}$;共模抑制比 $\geq 80\text{dB}$;共模电压范围 $\geq \pm 12\text{V}$ 。放大的信号在被描记前还要经过二次滤波:1. 为双Y滤波器,滤除50周干扰信号。2. 用F007CY型集成运算放大器为主要元件的有源低通滤波器,滤掉20周以上的各种干扰信号。心肌细胞搏动频率每秒只有几次,因而滤波对搏动产生的信号无影响。放大原理见图3。

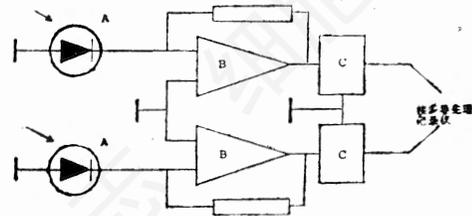


图3 光电换能放大原理图

A. 光电换能器 B. 微电流放大器 C. 滤波器

4. 记录与监视部分 最后经放大所得的电信号可达几毫伏,可用各种多导生理记录仪记录,我们使用LMS-2B型二道生理记录仪(成都仪器厂),FD-2多功能放大器双端输入(时间常数0.2 s、高频截止频率10 kHz、灵敏度0.02 mV/cm)。监视用一般双线示波器均可。

5. 恒温装置 由水银触点温控计、可调变压器、继电器、电热器及有机玻璃罩组成。

二、实验操作

按文献^[6,7]方法,取新生1—3天Sprague Dawley大鼠心室肌,剪成 1mm^3 小块,用0.06%胰蛋白酶溶液分次消化,最后加20%小牛血清的Eagle培养液制成 10^6cells/ml 细胞悬液,于 37°C 培养2天后见细胞贴壁出现自发性搏动,便可用于实验。将细胞培养瓶放于倒置显微镜的载物台上,在恒温(37°)条件下进行观察。选择要描记的两细胞(簇),将其中一细胞调节至视野中心点。再根据第二个细胞簇的方位、大小,选用适当孔径的光栅放入右镜筒中,调整其角度,使细胞恰好能被框住。然后将合适孔径、圆孔位于圆心的光栅放入左镜筒中。最后把前面装有光电池的圆筒插入左、右镜筒,开动放大、记录系统,便可监视、描记出两细胞(簇)搏动变化曲线。若要观察的两细胞间距大于视野半径,则第一个细胞首先调节至视野圆周与水平直径交点处,其它操作类同前述。整个调节操作很简易,一般在数分钟内就可完成。在实验中,我们使用本装置描记出的心肌细胞搏动图不论从频率、节律还是幅度、范围均与文献^[4-6]报道相符。图4为一细胞培养瓶同一视野中同时记录到的两个

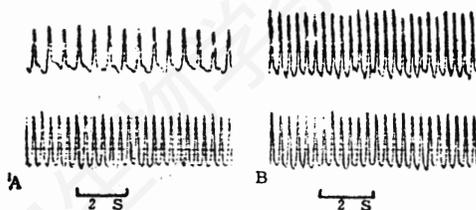


图4 同一视野下两个细胞簇的搏动

- A. 细胞培养36小时,两细胞以各自固有频率搏动
B. 细胞培养47小时,两细胞同步搏动

细胞簇的搏动,从各自自发节律性搏动的早期阶段到同步搏动的变化。从图中可以看出,搏动频率较快的细胞控制搏动率慢的细胞。

三、讨 论

心脏可以看作一个“功能性合体细胞”由窦

房结控制整个心脏的搏动。当分离成单个心肌细胞时,各个细胞能自发地、节律地跳动,联接时又能一起同步搏动,又呈现“功能性合体细胞”性质,维持正常心肌细胞所具有的结构和功能特点。自发性、节律性搏动是体外培养心肌细胞独有的特征,是反映细胞功能的一项重要观察指标。双光敏换能多细胞搏动同步描记系统,能使细胞搏动产生的光通量改变,互不干扰,分别经不同光道被接收光面积较大的光敏元件所接受,而产生较好的光电效应。光电转换信号十分微弱,需要经过充分放大,而不必要的干扰信号也随之放大。采用具有良好信噪比和较低零点飘移、高输入阻抗、高放大倍数的集成运算放大器很有必要。由于心肌细胞搏动频谱成分单纯,采用二次滤波及适当时间常数就不会使搏动波畸变。文献报道心肌细胞线粒体中细胞色素C能吸收530毫微米的可见光,使细胞局部加热引起搏动加快^[8];另一方面,光源热辐射能加热培养液,也会加快细胞搏动率。我们用加滤色片的方法消除530毫微米的光波影响及削弱光源热辐射。并发现光照对细胞搏动的加速作用仅发生在初期,以后就稳定在一定水平,不会影响实验结果。

培养的心肌细胞是分析生物活性物质对心肌细胞的直接作用,研究离子通透性,心脏受体,计算冲动传导的极好材料。在研究心脏节律活动过程中,研究心律失常和抗心律失常药物的作用机理时,起搏问题、同步问题是二个颇为重要的问题。本系统可完好地描记出多细胞搏动变化曲线,同步分析不同生理或病理状态的心肌细胞在各种因素刺激下的各自搏动特征,准确测定出细胞搏动同步时间,研究冲动在心肌细胞间传导过程及细胞之间的相互关系,并有简便、效率高、节省标本之优点,为细胞生物学、细胞药理学、细胞生理学等领域的研究提供一新的实验手段。

摘 要

本文阐述一种新的体外培养心肌细胞搏动

双光电描记系统,能同时描记出同一视野不同细胞(簇)的搏动变化,同步分析不同生理或病理状态的心肌细胞在各种因素刺激下的各自搏动特征,准确测定出细胞搏动发生同步的时间,研究冲动在心肌细胞间传导过程及细胞之间的互相关系,并有简便、效率高、节省细胞标本之优点。

参 考 文 献

[1] Boder, G. B. et al., 1971, *Nature.*, 231: 531—532.

[2] Carl, A. F. et al., 1987, *Circ Res.*, 60: 495—504.

[3] Okarma, T. B. et al., 1971, *Exp Cell Res.*, 69:128—134.

[4] Ira, S. A. et al., 1988, *Circ Res.*, 62: 523—534.

[5] 杨家粹等., 1989, *中国药理学报.*, 10: 118—121.

[6] Barry, W. H. et al., 1978, *J. Mol Cell Cardiol.*, 10: 967—970.

[7] Higgins, T. J. C. et al., 1979, *J. Mol Cell Cardiol.*, 11:101—103.

[8] Salet, C., 1972, *Exp Cell Res.*, 73:360—362.

细胞体密度构成图表示方法

申 洪

(第一军医大学病理解剖教研室)

郑氏(1984)提出了细胞体密度(V_v)构成图绘制方法^[1]。在确定核与细胞大小时,郑氏以核胞相对球径为比例,球径比等于核体密度的三次方根比1,而胞质中各结构成份 V_v 则以扇形面积大小代表。这种方法有以下不足:①在给出的同一构成图中,既有通过面积大小直接反映细胞结构构成的部分,又有通过换算以体积大小间接反映细胞构成的部分,各部分绘制标准不统一;②所绘构成图中核的相对面积大于以细胞为参照系时的核体密度($V_{v,n,c}$),而胞浆总的相对面积则小于各以细胞为参照系时胞浆各成份的体密度($V_{v,x,c}$)之和;③ $V_{v,n,c}$ 绘于圆图中央后,核圆周环面积为胞浆总面积,因此需将 $V_{v,x,c}$ 换算为以胞浆为参照系时的体密度($V_{v,x,p}$)才便于作图,郑氏对此未予说明。为此我们认为有必要对细胞 V_v 构成图具体表示和绘制方法作一些改进和说明:

1. 体视学基本原理表明,随机粒子在二维结构上的面积密度(A_A)等于其在三维结构中的 V_v ^[2]。在平面构成图中统一以面积大小反映 V_v 变化,不但方法统一,便于各部分比较,

而且在一定程度上符合 V_v 与 A_A 的基本关系。因此如以同心圆形式将 $V_{v,n,c}$ 绘在中央,那么要使核的相对面积与 $V_{v,n,c}$ 等值,则核胞平面直径比应等于 $V_{v,n,c}$ 的二次方根比1,即在细胞直径为 D_c 时,核直径(D_n)应为:

$$D_n = D_c \cdot \sqrt{V_{v,n,c}} \quad (1)$$

例如:已知 $V_{v,n,c} = 25\%$,若 $D_c = 2 \text{ cm}$,则 $D_n = 2 \times \sqrt{0.25} = 1 \text{ cm}$,这时核面积为 0.785 cm^2 ,细胞面积为 3.14 cm^2 ,两者之比为 0.25 ,与 $V_{v,n,c}$ 值一致。

2. 欲以郑氏细胞 V_v 构成图表示结果,胞浆各成份 V_v 最好以胞浆为参照系计算,这样只需将 $V_{v,x,c}$ 乘 360° ,即得构成图上相应部分的圆心角角度 θ° ,即:

$$\theta^\circ = 360^\circ V_{v,x,p} \quad (2)$$

作图后所得扇形面积减去其内核面积即为相应胞浆成份占有的面积。如果仅知 $V_{v,x,c}$,则应换算为 $V_{v,x,p}$ 后按上法作图。

$$V_{v,x,p} = V_{v,x,c} / (1 - V_{v,n,c}) \quad (3)$$

这种绘制方法整个圆图中各部分的面积,包括核面积,反映了细胞中各结构成份的构