

用<sup>[7]</sup>；还可能有助黄体的功能，因为蜕膜化与大鼠孕酮水平的升高和免黄体寿命的延长相伴随<sup>[16]</sup>。此问题的阐明尚有待于进一步的工作。

### 参 考 文 献

- [1] Finn, C. A., 1971. in "Advances in reproductive physiology". Marcus, W. H. ed., vol. 5, pp. 1—26, Logos, London.
- [2] Finn, C. A., 1977. in "Biology of the uterus". Wynn, R. M. ed., pp. 246—294, Plenum, N. Y.
- [3] O'Grady, J. E. & Bell, S. C., 1977. in "Development in mammalian". Johnson, M. H. ed., vol. 1, pp. 165—228, Amsterdam, North-Holland.
- [4] Riddick, D. H. & Kusmik, W. F., 1977. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 127, 167—190.
- [5] Rosenberg, S. M., Maslar, I. A. & Riddick, D. H., 1980. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 138, 681—685.
- [6] Golander, A., Barrett, J., Hurby, T., Barry, S. & Handeverger, S. H., 1979. *J. Clin. Endocr. Metab.* 49, 787—789.
- [7] Healy, D. L., Burger, H. G. & Müller, H. K., 1978. *Molecul. Cellu. Endocr.* 11, 1—6.
- [8] Bigazzi, M., Pollicino, G. & Nardi, E., 1979. *J. Clin. Endocr. Metab.* 49, 847—850.
- [9] Maslar, I. A., Kaplan, B. M., Luciano, A. A. & Riddick, D. H., 1980. *J. Clin. Endocr. Metab.* 51, 78—83.
- [10] Hochner-Celnikier, D., Ron, M., Eldor, A., Segal, S., Palti, Z., Fuks, Z. & Vlodavsky, I., 1984. *Biol. Reprod.* 31, 827—836.
- [11] WHO, 1980. Method manual 4th ed., WHO, Geneva.
- [12] Tekelioglu-Ugsal, M., Edwards, R. G. & Kisnisci, H. A., 1975. *J. Reprod. Fert.* 42, 431—438.
- [13] Frame, L., Royol, A., Riddick, D. H. & Baczynski, E., 1979. *Fertil. Steril.* 3, 647—650.
- [14] Tomita, K., McCoshen, J. A., Fernandez, C. S. & Tyson, J. B. 1982. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142, 420—426.
- [15] Belisle, S. & Tulchinsky, D., 1980. in "Maternal-fetal endocrinology". Tulchinsky, D. & Ryan, K. J. eds., pp. 181—182, Saunders, Philadelphia.
- [16] Edwards, R. G., 1981. in "Research in reproduction" pp. 1—2, IPPF, London.

## ATP-MgCl<sub>2</sub> 对体外培养心肌细胞的影响及组织化学观察

姜玉顺\* 金基煥\*\* 李松竹\*\*\* 崔苍海\*\* 金青松\*

(延边医学院组织胚胎教研室)

近二十多年来，国外对肝、肾、胆囊、巨噬细胞系统等组织和细胞处于缺血或缺氧时供能问题进行了广泛的研究，并取得了很多成果<sup>[1,2]</sup>。但能源复合物 ATP-MgCl<sub>2</sub> 对心肌细胞有何影响，尚未见报道。

我们用大白鼠乳鼠心肌细胞，原代单层培养进行了实验，探讨 ATP-MgCl<sub>2</sub> 对心肌细胞的影响。

### 材 料 与 方 法

大白鼠乳鼠心肌细胞按五岛喜与太<sup>[3]</sup>等的方法培养。

1. 给 ATP-MgCl<sub>2</sub> 的方法 取搏动频率不同的心肌细胞簇，在 37℃ 恒温条件下倒置显微镜下用内径 0.8 mm 硅橡胶管连接 7 号注射针，以不同速度(1 滴/分)将 1.15% ATP-MgCl<sub>2</sub> 溶液滴入 4 ml 的心肌细胞培养液中，每滴 ATP-MgCl<sub>2</sub> 含 ATP 2 Na·3 H<sub>2</sub>O 82.14 μg, MgCl<sub>2</sub>·6 H<sub>2</sub>O 27.5 μg。录象及光电描记记录心肌细胞的反应。

2. ATP-MgCl<sub>2</sub> 对心肌细胞组织化学的影响 培养 5~14 天的心肌细胞每隔 3 天更换培养液者为正常

\* 延边医学院组织胚胎教研室。

\*\* 延边医学院附属医院胸外科。

\*\*\* 延边医学院制药厂。

注：本文由赵秉勋副教授审阅，谨致谢意。

组,实验前不更换营养液或更换时间延长的为实验组。这两组又分3组:培养基内加3滴ATP-MgCl<sub>2</sub>处理60分钟的为加药组;不加药的为对照组;经酶处理去底物的为酶对照组。

1. 糖含量测定 取出生长有细胞的盖片,立即以冰冷的Carnoy液固定,然后进行PAS反应<sup>[4]</sup>;片子经唾液淀粉酶消化30分钟的为酶对照组。

2. 琥珀酸脱氢酶(SDH)活性测定<sup>[5]</sup> 将长有细胞的盖片移入SDH孵育液(0.1M琥珀酸钠5ml,0.1M磷酸缓冲液(pH7.6)5ml,氯化硝基四氮唑蓝(NBT)10mg,二甲亚砜5ml)中37℃30分钟,水洗、冷丙酮固定15分钟,用1%臧红复染。酶的对照组去底物。

3. 乳酸脱氢酶(LDH)活性测定 将长有细胞的盖片移入LDH孵育液(NBT 12.5mg,乳酸钠0.1g,辅酶I 2.5mg,0.05M pH8.0磷酸缓冲液15ml)37℃作用60分钟。对照组去酶的底物。

## 结 果

### 一、ATP-MgCl<sub>2</sub>对心肌细胞搏动频率的影响

1. 按一定的速度(1滴/2分钟),适量的ATP-MgCl<sub>2</sub>(2~3滴)能使搏动弱而不规则的心肌细胞增强其收缩力,变为规整(图1,2)。



图1 加药前心肌细胞簇的搏动频率



图2 加2滴ATP-MgCl<sub>2</sub>后的搏动频率

2. 当药物滴数逐渐增加时,心肌细胞搏动先增快,以后逐渐被抑制。在药物加至131滴(相当于ATP 10760.34μg, MgCl<sub>2</sub> 10760.34μg)时才停止搏动。若滴入速度加快,心肌细胞搏动频率就明显减慢,甚至停搏。但更换新的培养液后,心肌细胞又立即恢复自律性搏动。

3. 滴入单纯ATP时,虽然使心肌细胞收缩力稍增强,但心肌细胞搏动频率仍不规则。若滴入单纯MgCl<sub>2</sub>1滴时,心肌细胞搏动立即停止。

### 二、ATP-MgCl<sub>2</sub>对培养心肌细胞糖原含量的影响

1. 正常组心肌细胞,在加药组和对照组细胞内糖原含量都较多,无明显差异。

2. 实验组心肌细胞,在加药组和对照组的糖原含量有明显差异。加药组细胞内糖原颗粒含量多,染色深;但对照组细胞内糖原颗粒少,染色浅。

### 三、ATP-MgCl<sub>2</sub>对培养心肌细胞琥珀酸脱氢酶(SDH)活性的影响

1. 正常组心肌细胞,在加药组和对照组内SDH活性都较强,无明显差异。

2. 实验组中的SDH活性有明显差异;加药组心肌细胞SDH活性明显增高,但对照组细胞内SDH活性明显降低。

### 四、ATP-MgCl<sub>2</sub>对培养心肌细胞乳酸脱氢酶(LDH)活性的影响

1. 正常组心肌细胞内,LDH活性阳性,实验组心肌细胞内LDH活性明显增强。

2. 实验组内加药组LDH活性比对照组稍降低。

## 讨 论

心肌细胞收缩活动的能量供应,来自心肌细胞内旺盛的物质代谢。当细胞内能量供应不足时,外源性ATP能否起到供能作用?对这个问题有不同的看法。Glynn<sup>[6]</sup>等认为外源性ATP几乎不能通过细胞膜。但添田耕司<sup>[7]</sup>,Hirasawa<sup>[8]</sup>、大川昌权<sup>[9]</sup>等人报道ATP-Mg-Cl<sub>2</sub>对家犬、大白鼠等动物进行的实验,并进而应用于临床。在对休克、肝昏迷、肾功能衰竭等疾病的治疗时,发现外源ATP能改善组织、细胞的功能,提高疗效,从而降低死亡率。

我们的实验结果表明,当心肌细胞缺氧时,细胞内有氧呼吸过程受到抑制,引起ATP生成的减少,从而能量供应不足。这样的心肌细胞表现收缩节律失常,糖原颗粒减少,琥珀酸脱氢酶活性降低,乳酸脱氢酶活性增高。给予适量的ATP-MgCl<sub>2</sub>后,原来搏动弱而不规则的心

肌细胞,收缩力增强,节律规则,并且细胞内糖原颗粒增多,琥珀酸脱氢酶活性增强,乳酸脱氢酶的活性能够降低。

总之,外源ATP-MgCl<sub>2</sub>对培养的心肌细胞,尤其是对缺氧的心肌细胞,有抑制糖酵解,保存糖原,起良好的供能、保护、营养作用。

### 参 考 文 献

[1] Chaudry I.H. and Baus., 1977, *A M. J Physiol*, 83: 655.

- [2] 平泽博元等。1979。日外会誌,80:164。  
 [3] 五岛喜与太。1978。Protein Nucleic Acid and Enzyme, 12:1283—1285。  
 [4] 熊绪奋编著。1979。组织学标本制作技术, 328—329。  
 [5] 陈啸梅,周文郁等。1982年。组织化学手册, 224。人民卫生出版社出版。  
 [6] Glynn IM, 1968, *Brit. Med. Bull* 24:169。  
 [7] 添田耕司ほか。1983。日外会誌, 83:1343。  
 [8] Hirasawa, H et al., 1978; *Surgery* 83:655。  
 [9] 大川昌權ほか。1981。日外会誌, 82(2) 149—159。

## 不同刺激因子对狗骨髓CFU-C的影响

荆明新 李盈祺 谢宝春

(军事医学科学院放射医学研究所)

集落刺激因子(CSF)是集落形成单位(CFU-C)体外培养中的一个必不可少的条件,对培养结果的好坏起着决定性的作用。在狗的骨髓细胞培养中,同种异体血清是目前普遍采用的一种CSF,但由于制备方法不同,其刺激活力可有显著差别。为了确定狗血清刺激活力的适宜条件,我们对几种不同的CSF进行了研究。

### 材 料 和 方 法

#### 一、CSF的制备

1. 狗血清 选成年狗,分别于照射前1天和照射后1、7、11、18、21、25、30天采静脉血10 ml,分离血清,置-20℃冷冻保存。照射条件为钴-60 $\gamma$ 线3.0戈瑞全身照射。

2. 含红细胞血清 选成年狗,按上述条件进行照射,照射后11—18天,在静脉麻醉下股动脉放血,离心分离血清,将其分成若干份,分别加入一定量的沉淀红细胞,各份血清中红细胞含量分别为100、1550、4100、6950、21900个/mm<sup>3</sup>,置-20℃冷冻保存。

3. 肌、肺浸出液 选成年狗,取臀部肌肉和肺组织,按人胚胎肌浸液和肺浸液的漂洗方法<sup>[1]</sup>进行处理,然后置38℃浸泡7天,取上清,-20℃保存。

#### 二、CFU-C培养

狗骨髓细胞的CFU-C体外琼脂培养方法另见报道<sup>[2]</sup>。本实验的培养体系由以下成份组成:1640培养液8.7 ml,马血清5.8 ml,骨髓细胞悬液0.5—1.0 ml(每毫升培养物内含10<sup>5</sup>个有核细胞),3%琼脂1.2 ml(琼脂最终浓度为1.3%),每个培养皿内加入0.4 ml CSF和1.0 ml培养混合物。置38℃培养7天。

### 结 果 和 讨 论

#### 一、正常狗之间的血清CSF活力差异

实验结果表明,正常狗的造血功能可因个体不同而异,这种差别不仅表现为骨髓有核细胞总数和CFU-C产率的不同,而且也表现为血清CSF活力的不同。如表1所示,通过CFU-

表 1 正常狗血清CSF活力比较

狗号	CFU-C 10 <sup>5</sup>					
	1	2	3	4	平均值	标准误
67	24	28	30	27	27.3	1.2
68	1	1	2	2	1.5	0.2
84	16	18	16	20	17.5	1.0
88	22	18	17	20	19.3	1.1
0	6	7	5	6	6.0	0.8