

实验 12 影响心肌活动的化学因素

【实验目的】

1. 学习离体蛙心的灌流方法，了解离体器官的研究方法。
2. 观察钠、钾、钙三种离子、肾上腺素、乙酰胆碱等化学因素对心脏活动的影响，加深理解内环境的相对稳定对维持心脏正常活动的重要意义。

【实验原理】

1. 作为蛙心起搏点的静脉窦能按一定节律自动产生兴奋。只要将离体的蛙心保持在适宜的环境中，在一定时间内仍能产生节律性兴奋和收缩活动。
2. 心肌细胞生物电活动的基础是钠、钾、钙等跨膜离子流，故细胞外液中这些离子浓度的改变会对心脏的活动产生不同的影响。
3. 调节心脏活动的神经、体液因素对心脏的直接作用是神经递质或激素与心肌细胞膜相应受体结合，导致心脏那个活动的增强或减弱。乙酰胆碱和肾上腺素就是通过这种方式发挥作用的。

【实验对象】

蛙或蟾蜍。

【实验器材与药品】

计算机生物信号采集处理系统，蛙类手术器械 1 套，玻璃蛙心插管，蛙心夹，双凹夹，铁支架，张力换能器，丝线，滴管，任氏液，0.65%氯化钠溶液，3%氯化钙溶液，1%氯化钾溶液，1:10000 肾上腺素溶液，1:100000 乙酰胆碱溶液。

【实验方法和步骤】

一、蛙心的制备

1. 暴露蛙心 取蟾蜍一只，毁坏脑和脊髓，将其仰卧固定在蛙板上。从剑突下将胸部皮肤向上剪开或剪掉，然后剪掉胸骨，打开心包，暴露心脏和动脉干。
2. 观察心脏的解剖结构 在腹面可以看到一个心室，其上方有两个心房，心室右上角连着一个动脉干，动脉干根部膨大为动脉圆锥，也称动脉球。动脉向上可分左右两支。用玻璃针从动脉干背部穿过，将心脏翻向头侧，在心脏背面两心房下面，可以看到颜色较紫红的膨大部分，为静脉窦，这是两栖类动物心脏的起搏点，观察静脉窦、心房、心室间收缩的先后关系（图 12-1）。

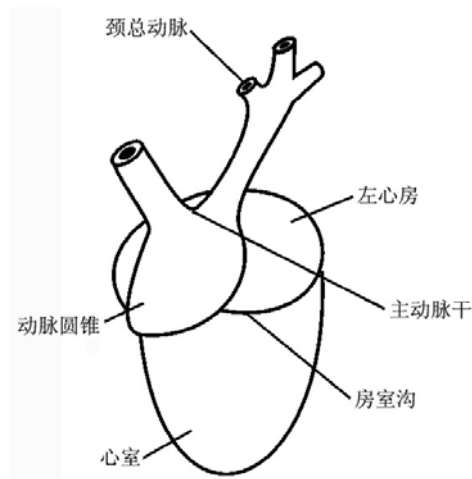


图 12-1 蛙心各部分组成示意

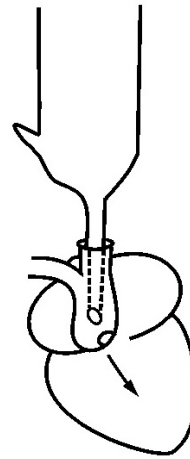


图 12-2 插管插入心室示意

3. 心脏插管 先用丝线分别结扎右主动脉、左右肺动脉、前后腔静脉，也可以在心脏下方绕一丝线，将上述血管一起结扎，但此结扎应特别小心，勿损伤静脉窦，以免引起心脏骤停。结扎时，可用蛙心夹在心舒期夹住心尖，将心脏连线提起，看清楚再结扎。准备插管，在左主动脉下穿一丝线，打一松结，用眼科剪在左主动脉上向心剪斜口（一定要剪破动脉内膜），让心脏里的血尽可能流出（以免插管后血液凝固）。用任氏液将流出的血冲洗干净后，把装有任氏液的蛙心插管插入左主动脉，插至主动脉球后稍退出，再将插管沿主动脉球后壁向心室中央方向插入，经主动脉瓣插入心室腔内。此时可见插管内液面随心搏上下移动。将预先打好的松结扎紧，并将线固定在插管壁上的玻璃小钩上防止滑脱，用滴管吸去插管内液体，更换新鲜的任氏液，小心提起插管和心脏，在上述血管结扎处的下方剪去血管和所有的牵连组织，将心脏离体。此时，离体蛙心已制备成功，可供实验（图 12-2）。

二、实验装置

用试管夹和双凹夹将蛙心套管固定于铁支架上，在心室舒张期，用蛙心夹夹住心尖，并将蛙心夹上的线连至张力换能器，连线应保持垂直，松紧适当。再将张力换能器与微机生理信号采集设备或二道生理记录仪连接。

一、实验观察

1. 暴露蛙心 取蟾蜍一只，毁坏脑和脊髓，将其仰卧固定在蛙板上。从剑突下将胸部皮肤向上剪开或剪掉，然后剪掉胸骨，打开心包，暴露心脏和动脉干。1. 描记正常的蛙心搏动曲线，注意观察心跳频率、强度及心室的收缩和舒张程度。记录一段正常蛙心跳动曲线用作对照。
2. 蛙心插管内的任氏液全部更换为等量的 0.65% 氯化钠溶液，观察心跳变化。
3. 吸出 0.65% 氯化钠溶液，用新鲜任氏液反复换洗数次，待心跳曲线恢复正常后，在灌注液内滴加 3% 氯化钙溶液 1~2 滴，观察心跳变化。
4. 含有氯化钙的灌注液吸出，用新鲜的任氏液反复换洗，待曲线恢复正常后，在任氏液中加 1% 氯化钾溶液 1~2 滴，观察心跳变化。
5. 将含有氯化钾的林格液吸出，用新鲜的林格液反复换洗。待曲线恢复正常后，再在灌注液中加 1:10 000 肾上腺素溶液 1~2 滴，观察心跳变化。

6. 含有肾上腺素的灌注液吸出，用新鲜的任氏液反复换洗，待曲线恢复正常后，再在灌注液中加 1：100 000 的乙酰胆碱溶液 1~2 滴，观察心跳变化。

【注意事项】

1. 制备蛙心标本时，勿伤及静脉窦。
2. 每次换液时，蛙心套管内液面应保持同一高度。
3. 随时滴加任氏液于心脏表面使之保持湿润。
4. 各种试剂的滴管应区分专用，不可混用，以免影响实验结果。
5. 加试剂时，先加 1~2 滴，用滴管混匀后如作用不明显可适当补加，但须逐滴加入，密切观察药物剂量添加后的实验结果。
6. 上述各实验项目，一旦出现作用，应立即将套管内的液体吸出而以新鲜任氏液换洗，以免心肌受损，并重复换洗几次使心搏曲线恢复正常后方能进行下一步实验。
7. 每项实验都应有前后对照。

【思考题】

1. 正常蛙心搏动曲线的各个组成部分分别反映了什么？
2. 在每个实验项目中，心搏曲线分别出现什么变化，为什么？
3. 将以上实验所得结果归纳起来，说明了什么问题？
4. 每项实验中，套管内液面为什么都应保持相同的高度？
5. 如果你们的实验结果与预期的不同，请找出原因。
6. 查阅资料，说明科学家是如何证实 NA、ACh 分别是交感神经和迷走神经递质的？
7. 心迷走和心交感神经何者占优势？如何证明？

(李嘉 段玉斌)