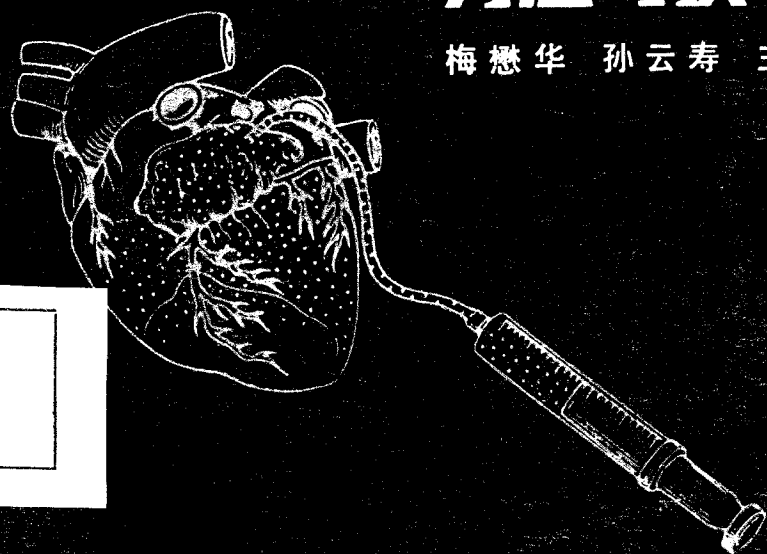


第四集

生理学 方法与技术

梅懋华 孙云寿 主编



内 容 简 介

《生理学方法与技术》第四集是专以介绍当前我国生理科学领域内所采用的实验研究方法与技术。由于生理科学范围比较宽广，所使用的方法与技术更是多种多样。随着生产技术的发展，实验方法与技术也不断地完善与更新，因此本书以汇编方式分册出版发行，以便能及时把收集的新方法、新技术提供给读者。

本集收集了中枢神经、肌肉神经、循环、消化、内分泌、代谢等方面常用的方法，并对电生理学所使用的基本仪器、动作电位记录、标本的制备等有关方法作了介绍。

可供从事基础医学、临床医学、动物生理学、教育学、体育卫生、畜牧兽医等诸专业师生、科研工作者参考。

生理学方法与技术

第四集

梅懋华 孙云寿 主编

责任编辑 吴爱珍

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1986年11月第 一 版 开本：787×1092 1/32

1986年11月第一次印刷 印张：8 3/4

印数：0001—2,400 字数：197,000

统一书号：13031·3342

本社书号：4786·13—10

定价：2.05 元

前 言

《生理学方法与技术》是为了适应当前建设现代化的社会主义强国的需要而编写的。实现四个现代化要求迅速出成果，出人才，所有生物科学与医学工作者面临着不断提高教学质量、广泛开展科学研究工作的任务，需要用生理学的方法与技术，来解决他们在科学研究中遇到的一些问题。可是十余年来我国生理科学受到严重损失，科学队伍的建设也受到极大的破坏，使我国生理学在许多领域内与国际先进水平的差距增大了，远远不能适应形势的需要。摆在我们生理科学工作者面前的任务之一，就是编一本关于生理学方法与技术的参考书，供年轻的生理学工作者和临床工作者使用，这对于解决他们在科学研究和教学中遇到的部分问题，能有所帮助。因此，本书在选题方面多着重于基本的、现代的和实用的方法和技术，然而对于已经在临床和生理教学中广泛、常规使用的，国内已有较多的其他材料可查阅的方法与技术就不列入。

本书在写法上着重于实验方法和技术的描述，注意经验与体会的介绍，力求阅读之后就能应用，但为有助于正确地选择方法与技术，也斟酌情况说明其理论基础。在编辑出版方面，采取分册陆续出书的办法，这样也能及时反映国内生理科学的发展，另外也便于读者选购所需资料。

本书在编辑过程中得到各校党委和科学出版社的领导与支持及不少单位的专家，教师的赞助与扶植，积极为本书撰稿，才使本书能早日与读者见面。但是我们业务水平有限，

对国内各单位的研究情况了解不够，以致在本书的选题及编辑方面必然存在缺点和问题，请读者批评指正或提出建议。

编者

1980年11月

目 录

前言.....	(iii)
应用CMC-80微型计算机分析心肌动作.....吴 明	(1)
电位	
狗心浦肯野氏纤维动作电位记录...边毓土、刘远谋	(7)
心脏舒张功能的非创伤性测定法——一种新的心前 区阻抗记录法.....臧益民、王鹏巨	(16)
家兔窦房结标本的制备方法.....杨秦飞	(29)
放射性生物微球测定局部心肌血流量于占久、王景贤	(34)
电磁流量计的应用.....朱妙章、臧益民	(38)
多部位阻抗微分图的同步记录法.....董秀珍等	(54)
脉搏图的测定方法.....傅骢远	(68)
慢性实验狗下腔静脉血管瘘的手术方法.....傅骢远	(79)
用分离纤维细束的方法记录肌肉神经中无髓鞘纤维 的单位放电.....张淑洁、江振裕	(82)
蟾蜍缝匠肌细胞膜电位与钾离子浓度的关系蒋桂芳、高汝曩	(88)
用剥制细束法记录外周神经中单位电活动...梅 俊	(97)
用剥制细束法在猫脊髓白质中记录单位电活动梅 俊	(102)
从脊髓白质块中记录脊髓电位.....梅 俊	(106)
脑灌流及乙酰胆碱的测定.....陈先谕	(110)

• i •

动物条件性行为的实验技术·····	梅镇彤等	(120)
人类睡眠特征的描记及睡眠时相的划分 ·····	高 波、江振裕	(142)
马桑内酯注射液形成家兔癫痫模型的方法 ·····	徐建国、曾怀德	(150)
用辣根过氧化物酶溶液低温快速充灌玻璃微电极的 方法·····	卿德华等	(153)
胃肠道电活动的慢性记录方法·····	张经济	(160)
促胰液素的制备·····	王春林、梅懋华	(172)
胆囊收缩素的制备·····	王春林	(180)
代谢清除率和产生速率的测定——代谢的动力学研 究方法·····	杨守礼、黄胜利等	(188)
组织的呼吸与抑制(氧电极法)·····	成柏华	(202)
大鼠的垂体摘除法·····	徐 斌	(208)
大鼠卵泡颗粒细胞的培养及其形态学和机能学 检测·····	高而威	(217)
提取小动物肺泡巨噬细胞的洗肺方法·····	孙秀泓	(235)
薄层层析光密度定量法及其在甾体激素分析中的 应用·····	高思政	(243)
分布参数与转换·····	金正均	(263)

应用CMC-80微型计算机分析

心肌动作电位

吴 明

(上海科技大学生物医学工程教研组)

微型计算机的出现使常规的医学实验仪器和手段获得很大的改进,这是由于微型计算机具有以下三个特点:(1)可编制程序来完成各种处理和计算任务;(2)能方便地配上多种常用仪器设备,使测量能自动完成,并提高精确度;(3)价格比较低廉。国产CMC-80双板微型计算机,可用于生理学实验示波装置。

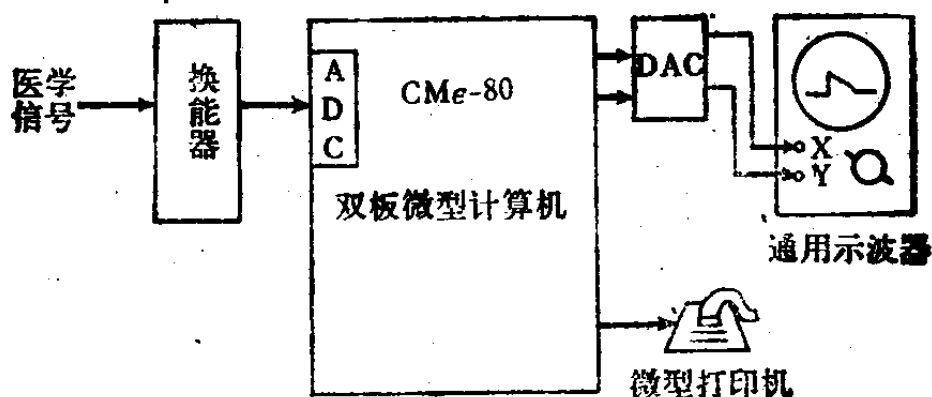


图1 实验示波装置框图。

如图1所示,该装置由微型计算机和输入输出设备组成。微型计算机的左侧连接各种医用换能器作为输入,右侧连接通用示波器和微型打印机作为输出。医学信号通过模/数

转换器（即ADC）变为数字量存入微型计算机存储器，存储器内的数据通过数/模转换器（即DAC）输出到示波器的X轴和Y轴，在屏幕上显示出图形。微型计算机中编制的处理程序又可对存储器内的数据进行计算，结果可成为实验数据，并通过打印机打印出来。

生理学实验常常要求直观地显示出生理信息图形，同时需要对信号的时间、空间和强度等参数进行分析。示波装置有四种功能：存贮示波、一般处理、光标操作和打印输出。

一、CMC-80双板微型计算机数字 键的重新命名

为了便于生理学实验应用，对原CMC-80双板微型计算机的数字键盘（图2A）重新命名，实验者在操作微型计

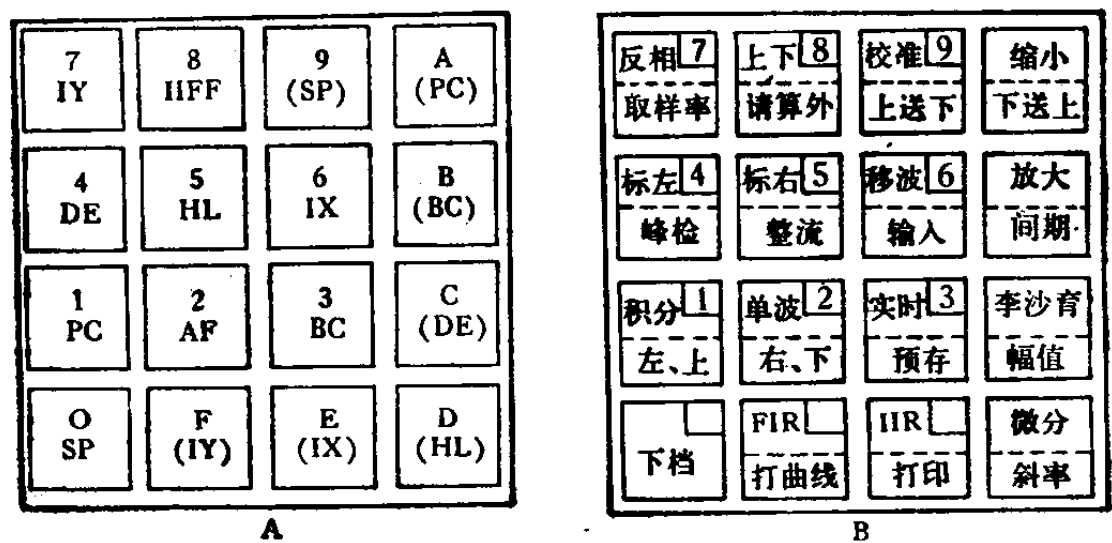


图2 A. 原数字键盘名称；B. 修改后键盘名称。

机时，只要按所命名的键，即可完成相应的处理操作。图2B为修改后的键盘名称，其相应的键盘分析程序流程框图示于图3。修改后的键盘为双档键，即一个键能发挥两个功

能，直接按键程序执行上档功能，就是键上虚线上部所表明的功能。如要发挥下档功能，需首先按键盘左下角“下档”键，然后再按其它键，则执行下档功能。

从程序框图可见，其基本状态是不断扫描显示一帧波形，以及扫描键盘状况，查询操作者的命令。如果有键盘命令输入，则转去执行相应的处理程序，处理之后一般是返回到基本状态。

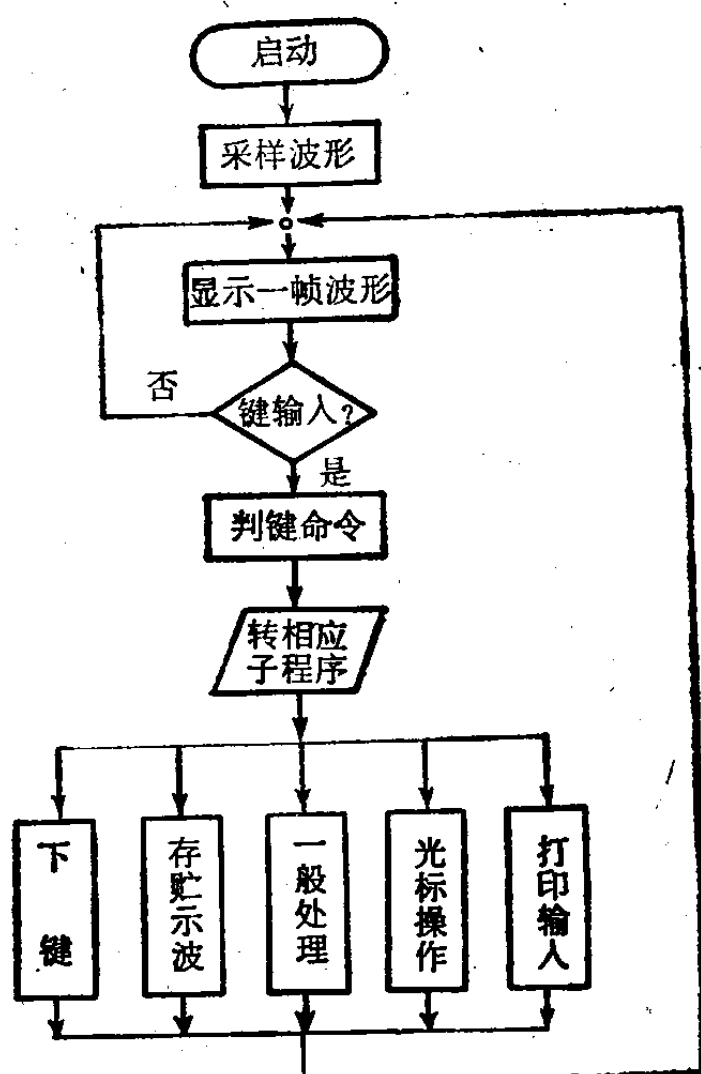


图3 键盘分析程序流程框图。

二、实验操作步骤

兹以心肌细胞的动作电位波形显示和测量为例，列出实验操作基本步骤如下。

(1) 将被测信号连到双板微型计算机ADC的输入通道，注意输入信号电压范围不得超过 ± 2.5 伏。双板微型计算机输出连接到示波器X轴和Y轴，也连好微型打印机。

(2) 连接好双板微型计算机和微型打印机所需的+5伏直流电源，检查无误后，打开各电源开关，双板微型计算

机显示器上应出现“-”号。

(3) 按下“RESET”按钮, 微型计算机进入初始化运行状态。

(4) 通过双板微型板的监控命令键“MEM”, 从内存单元220A开始, 顺次送入计算参量08、20、年份、月份和日期。

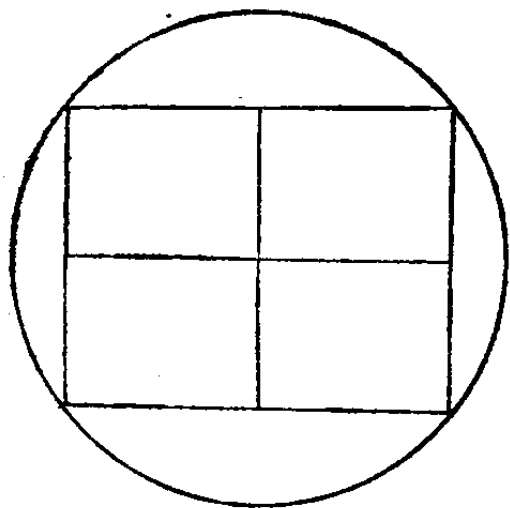


图4 校准图形。

(5) 按“校准”键, 示波器上出现校准图形, 调整示波器上X轴和Y轴的增益, 使它满足图4所示图形的规格。

(6) 按“实时”键, 微型计算机以250赫兹采样率进行采样, 同时回放在示波器显示屏上, 走动显示。

(7) 按“单波”键, 微型计算机执行存贮示波功能, 此时走动示波的波形被“冻结”在显示屏上, 如图5所示。这是以250赫兹速率采样的心肌细胞动作电位波形图, 此图可见到动作电位的各个时相。



图5 心肌细胞动作电位的波形。

(8) 对上述波形可进行一般常规处理, 如积分、微分、放大、缩小、整流、反相和滤波, 只要按键盘上相应的键即可完成。图6A为按“微分”键后的图形, 通常在显示屏上显示两条波形, 上条为被处理的波形, 下条为处理后的波形。图6B为按“FIR滤波”键后的图形。

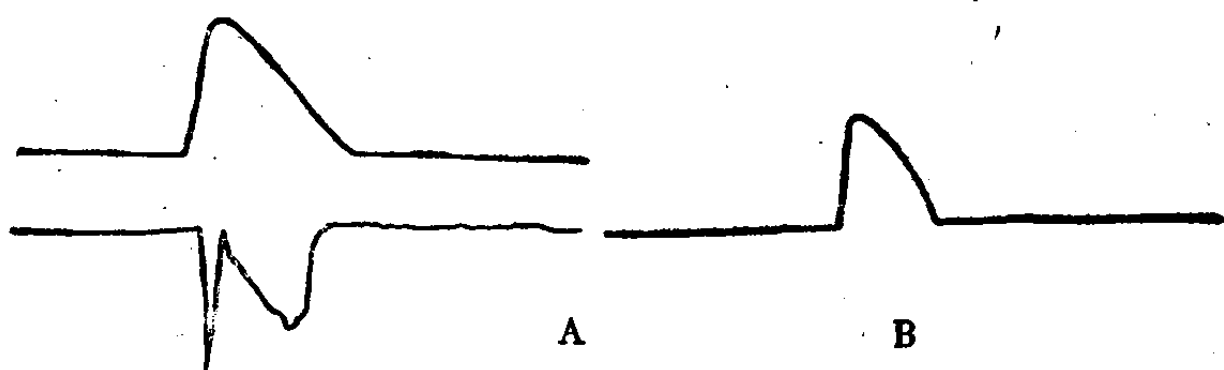


图6 A. 心肌细胞动作电位微分波形, B. 心肌细胞动作电位滤波波形。

(9) 执行波形测量任务时, 首先需调整波形上两光标位置, 然后才能进行测量。按“标左移”或“标右移”键, 即可对其中一光标进行左移或右移操作。光标的选择需按“下档键”和“左、上”或“右、下”键, 以决定是左还是右光标被选中移动。

(10) 当两光标已移到要测量的部位, 见图7A, 按“幅值”键, 即可在双板微型计算机的t段数码管上显示出两光标间的幅值数值; 图7B所示的两光标部位, 是测定光标间期数值的, 当按“间期”键后, 可在数码管上读到该值。当按“斜率”键后, 可获得两光标所在部位的斜率值。

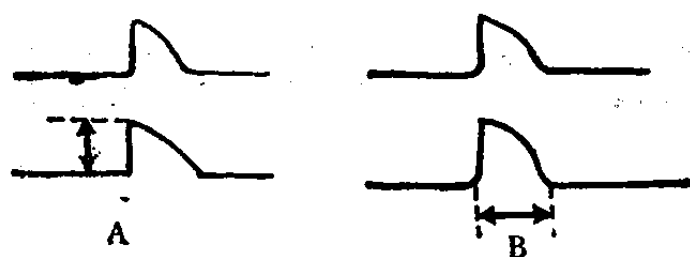


图7 A. 测量幅值; B. 测量间期。

(11) 需将上述数值打印出来, 则按“打印”键, 即可从微型打印机上打印出所测得的幅值、间期和斜率数值。若同时按“打曲线”键, 心肌细胞动作电位波形也可打印出来。

以上步骤从(6)到(11)可以按需要而改变先后执行的顺序。若要改变输入信号时的采样率,必须按如下顺序操作键盘:首先按“下档”键,然后按“取样率”键,最后按键盘右上角表注1—9数字的某一键,即可选择某个采样频率。其中“1”为4.5千赫兹,“2”为2千赫兹,“3”为1千赫兹,“4”为800赫兹,“5”为650赫兹,“6”为500赫兹,“7”为400赫兹,“8”为300赫兹,“9”为200赫兹,共9档。键盘上其它键的功能为命名所示,详见图2B。

上述心肌细胞动作电位的显示、处理和测量分析等,由于微型计算机的参与使实验过程更加形象化,使操作者和微型计算机之间保持了连续“实时”的对话方式。同时,由于使用了微型计算机,可使传统的通用示波器发挥存贮示波器的作用,实验方法也智能化了,提高了实验的精确性和科学性,是一种值得推广的技术。

参 考 文 献

- 〔1〕 方积乾等:1981。电子计算机及其在医学中的应用。人民卫生出版社。
- 〔2〕 Tompkins, J. and Webster, G. 1981. Design of Microcomputer-Based Medical Instrumentation. Prentice-Hall, Inc.

狗心浦肯野氏纤维动作电位记录

边毓土 刘远谋

(上海第二医科大学大学生理教研室)

心肌细胞电生理研究对心肌活动时的离子运动、心电图、心律失常的病理机制、抗心律失常药物的作用机制、以及对心脏有毒物的毒理学研究等都具有重要意义。由于心脏内不同部位心肌细胞的动作电位及离子动力学特征各有其特点，它们对药物的敏感性的相差亦大。因此，应用单个心肌标本进行实验，所获得的结果较确切而能说明问题，而浦肯野氏纤维为典型的心脏传导组织，被广泛地采用，故介绍记录狗心浦肯野氏纤维动作电位的技术如下。

一、实验动物和器材

动物 成年狗心标本，由于心内膜较厚，穿刺时应选择适当的角度。而体重低于4公斤的小狗，虽然心标本制作略较困难，但进行微电极穿刺则较方便。

器材 双脉冲方波刺激器、微电极放大器（中国科学院生理研究所制FW-2型或上海国泰电讯器材厂产品WDF型）、SBR-1型双线示波器、步进式微操纵仪（上海量具刃具厂、上海国泰电讯器材厂合制）、SB-4示波器照相机或SC₁光线示波器、动作电位微分器（中国科学院生理研究所制）。

减震器（无锡减震器厂）、有机玻璃恒温标本槽、蠕动泵、超级恒温器、双筒解剖显微镜、冷光源、手术器械、5%CO₂和90%O₂的混合气体（简单混合气）。

改良台氏溶液 KCl 2.7; NaCl 137; NaHCO₃ 12; MgCl₂ 0.5; NaH₂PO₄ 1.8; CaCl₂ 2.7; 葡萄糖 5.5（以上单位均为毫摩尔/升）。微电极充灌液：KCl 3摩尔/升或 KCl 2.5摩尔/升, Ag-AgCl 乏极化引导电极, 双极刺激电极。

二、实验操作（几项关键性的实验准备）

1. 工作台和微操纵仪的防震 从细胞内记录的动作电位，要求在同一个细胞上进行，实验完毕后，再用生理盐水灌注到同一细胞，使其恢复正常，这样的资料才比较可靠，否则很难说明，所得到的结果是否含有损伤、非同一细胞等的因素，从而增加了实验的不可靠性。因此，一般心肌细胞实验，要求一根微电极在一个细胞内连续记录 3~4 小时，甚至更长时间，为此，实验台和微操纵仪的防震和稳定是必须具备的条件，过去多采用砂罐防震，但效果较差。现采用工业上用的减震防震器，效果较好。其主要措施有两：一为实验台和微电极操纵仪都用厚钢板，加重后可增加惯性；二为应用相应压强的减震器垫，置于实验台脚下和装有微电极操纵仪的厚钢板下，经过二重防震，一般地面上的震动（如吉普车的震动）即传不到微电极上。

2. 微电极操纵仪 为了稳定而能长时间的进行实验，还需要有一台极为稳定的而无惯性的微电极操纵仪，要求达到以下指标：粗调必须在 X、Y、Z 轴方向调节方便，并要有刻度指示。微调进级最好在微米级、无惯性，并且停止后要有自锁，这样才能长时间地将微电极稳定在细胞内记录。我

国生产的步进式微操纵仪可达到此要求指标，它的微动性、回程间隙误差等方面的精密度较高，每一步可将微电极推进0.5微米，由于步进电机在通电而无脉冲时具有自锁作用，故整机静止时，8小时的垂直误差位移小于1微米。

三、实验方法和步骤

首先作好准备工作，如台氏溶液加温、恒温调节、充混合气、标本槽的灌流系统、玻璃微电极的灌注和检查、微操纵仪的调节等。

1. 标本制备 用0.25%戊巴比妥钠溶液，以25毫克/公斤体重的剂量，对狗作腹腔注射，动物麻醉后，切开胸腔，剪断主动脉，剪开心包膜及纵隔内的其它联系组织，取出心脏，投入充有混合气的37℃台氏溶液内，洗净血液，以避免心室内有凝血块而影响手术，经2—3次清洗后，将心脏置于标本槽内，槽内有充混合气的台氏溶液，然后按下述程序制作标本。

(1) 沿房室环将左右心房剪除。

(2) 置右心室向上，心尖向外，用注射针钉住心尖部。

(3) 沿心室间隔前缘，从右心房侧的房室孔向心尖部逐渐地将右心室壁剪开，操作者左手提起右心室壁，注视右心室内部，当剪至近心尖的1/4处时，可见到前乳头肌及调节带，在这二者的表面，有乳白色并带粉红的半透明的右束枝及其分枝（称伪腱），伪腱从前乳头肌向右心室壁发出分枝，然后反复分枝组成浦肯野氏纤维网。当见到前乳头肌及伪腱时，尽可能避免牵拉。用细丝线沿乳头肌表面结扎伪腱，并剪断。轻轻翻开右心室壁，用小镊子提起结扎线，在

右心室壁上剪断伪腱的分枝，以游离右束枝作为标本。

(4) 将左心室翻向上（室间隔在右侧），用针钉住心尖部。在左心室壁的中部，从房室瓣口向心尖部剪开，近室间隔前缘侧可见到左侧的乳头肌。轻轻提起右侧的左心室壁切口，可见到室间隔内与乳头肌相连的左前分枝和伪腱。紧贴乳头肌将伪腱结扎，并剪断之。轻轻翻开右侧的左心室壁，看清左前分枝从室间隔分出处；剪断左前分枝，游离之，作为标本备用。

轻轻提起左侧的左心室壁切口，可见到室间隔发出的左后分枝，它与乳头肌相连。在左后分枝与室间隔相连处结扎左后分枝并剪断，然后将左边的左心室壁切口翻开，沿左乳头肌剪断伪腱，游离标本备用。

如果需要，还可以在左、右心室壁上分离浦肯野氏纤维的网络，剪下备用。

2. 标本固定 将游离的右束枝或左前分枝或左后分枝固定，其方法将30号不锈钢小钉固定其两端，但按其自然长度，勿牵拉，固定于硅橡胶板上，选择位置应考虑：（1）标本粗端给予刺激，细端插入微电极以便记录；（2）标本长轴与灌流液方向一致；（3）应考虑照明、解剖镜、微操纵仪移动量以及刺激电极移动位置的配合。

3. 微电极穿刺与记录 按图1布置各种仪器。事先将已固定的标本在 $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 的充以混合气台氏溶液（ $\text{pH} = 7.4$ ）灌流条件下，静置0.5—1.0小时左右，则标本的兴奋性可逐渐恢复。用双极刺激电极（用30号不锈钢丝制成）轻轻触及标本的粗端，给予刺激，电刺激参数为：频率60—75次/秒，波宽1毫秒，刺激隔离器输出电压为2—6伏，一般刺激强度控制在阈强度的一倍左右。在用解剖显微镜监视下进行观察，如果标本有搏动，则适当降低刺激强度。

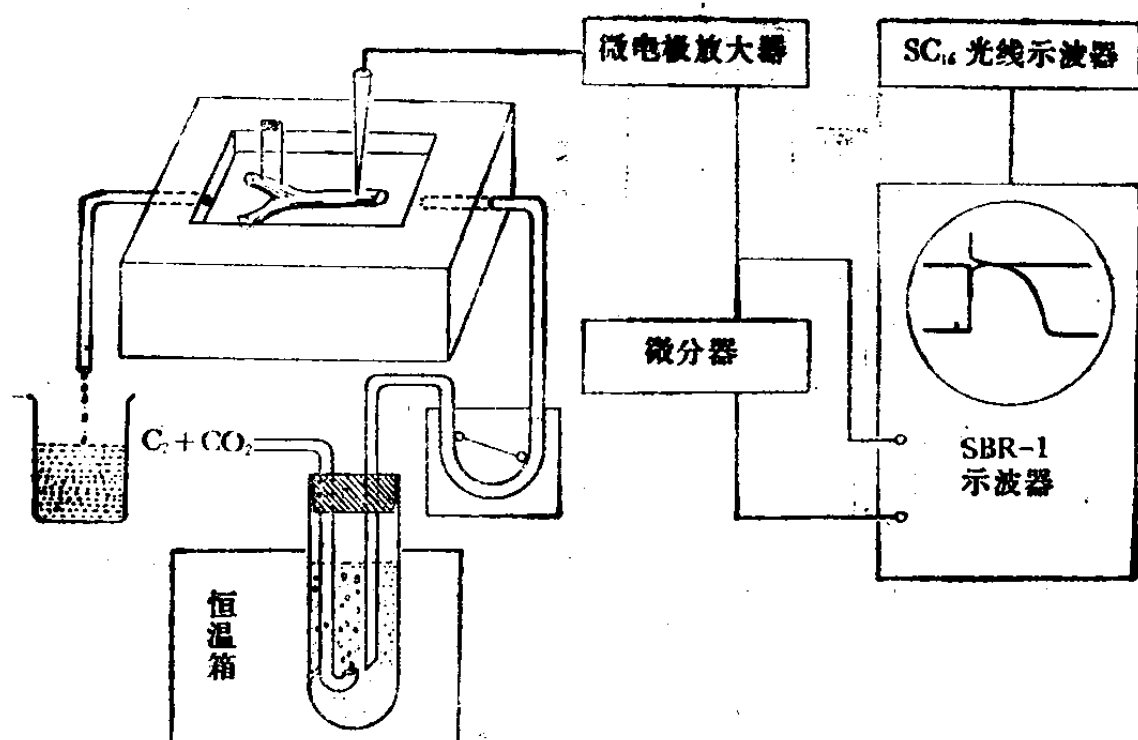


图1 仪器连接示意图。

将步进式微操纵仪的转角锁紧，旋钮放松。微电极支架仰起 45° 左右，把玻璃微电极装在垂直支架上，玻璃微电极内插入Ag-AgCl乏极化电极，作探查电极引导。然后放下垂直支架，使玻璃微电极与水平垂直，锁紧转角旋钮。在解剖显微镜直视下，调节Z轴和X轴的位置，使微电极尖端对准标本。再调节Y轴粗调，使微电极尖端下降至台氏溶液液面（参见图2）。微电极引起微电极放大器探头的输入端，另一端为无关电极。无关电极通过台氏溶液盐桥连到标本盒另一小室，内装KCl（浓度为3摩尔/升并与周围不通），以Ag-AgCl乏极化电极引起探头的外壳端。标本盒的台氏溶液可通过Ag-AgCl电极接地。

用微电极穿刺标本前半小时，接通微电极放大器电源，并调试SBR-1的平衡等。当微电极尖端与台氏溶液接触时，把微放的记录/校正电键拨向校正，此时在示波器上可见到矩形校正讯号。当微放增益 $\times 10$ ，示波器Y轴灵敏度为0.2