

上海第二医学院

建国三十五周年学术报告会

论文摘要汇编

上海第二医学院医学情报研究室

1984. 10.

基础医学目录

生理:

1. 单次心跳的体表希氏束电图检测..... 1
2. 抗心律失常新药心律平对心室肌快反应动作电位的影响..... 2
3. 抗心律失常新药心律平对心肌慢反应动作电位和离子流的影响..... 3
4. 微电脑控制可编程序刺激器..... 3
5. 程序刺激器..... 4

生化:

6. 人外周血白细胞 DNA 的分离纯化..... 5
7. λ DNA 的制备..... 5
8. 限制性内切酶 EcoRI 的提取和鉴定..... 6
9. 人淋巴细胞中的腺苷脱氨酶..... 7
10. 小鼠胸腺细胞花生凝集素受体的荧光定量..... 7
11. 小牛胸腺肽在体外对 CFW 小鼠胸腺细胞 PNA 受体的影响..... 8
12. 儿童尿液中唾液酸、岩藻糖、己糖及氨基己糖的测定及其临床应用..... 9

药理:

13. 用定量薄层分析法测定胍嗪啉及其代谢物.....10
14. 氢化可的松(HC)对急性严重失血家兔的保护作用.....11
15. 拟肾上腺素药对家兔交感神经电活动的影响.....12
16. 心福甙分离物——铃兰毒甙对离体心肌细胞电生理特性的影响.....13
17. 常咯林对大鼠离体心室肌异常自律性的影响.....14
18. 包公藤甲素的中枢 M——胆碱能效应.....14

解剖:

19. 腠静脉的合成.....16
20. 外固定架治疗骨盆骨折脱位效果评价的计算机分析——I 耻骨联合分离的疗效分析.....16
21. 耻骨联合的受力和应力的电测与分析.....17

化学:

22. 血清、胆汁和胆石中胆汁酸的气液色谱分析法.....18
23. 治疗青光眼新药包公藤甲素人工合成.....18
24. 包公藤甲素的气液色谱分析.....19
25. 质谱元素组成式的推算.....20

病理解剖:

26. 骨肿瘤诊断和研究中电子显微镜的应用.....21
27. 几种全人工心脏泵体材料对大白鼠结缔组织相容性的实验研究.....21

28. 家兔肺泡巨噬细胞的形态学观察·····	22
29. 134 例无裂细胞性淋巴瘤病理形态分析·····	23
30. 医用生物材料的基础研究——动态组织学观察及超微结构观察·····	23
31. 厌氧棒状杆菌菌苗的免疫病理——I. 菌苗治疗瘤性胸水的电子显微镜动态观察·····	25
32. 厌氧棒状杆菌菌苗的免疫病理——IV. 菌苗活化巨噬细胞对肿瘤细胞作用的缩时 显微电影研究·····	26
33. 家兔肺泡巨噬细胞的灌洗方法及影响因素·····	27

病理生理:

34. 以丙二醛法测定血小板半生存时间·····	28
35. 正常妇女经血中因子Ⅷ相关抗原含量的测定·····	29
36. 蒲黄对家兔实验性动脉粥样硬化病变消退的影响·····	30

组织胚胎:

37. 输精管内注射鱼油酸钠抗生育效果的研究——I. 动物实验·····	31
38. 输精管内注射鱼肝油酸钠抗生育效果的研究——II. 临床应用·····	32
39. 输精管内注射鱼肝油酸钠后睾丸及附睾内免疫复合物的观察·····	32
40. 服棉酚后睾丸组织内的免疫活性细胞的观察·····	33
41. 麦芽凝集素(WGA)引起的凝集度增加可作为人精子获能的指标·····	34
42. 鱼肝油酸钠对人类精子膜 WGA 受体的影响·····	35
43. 人精子膜 WGA 受体缺失是男性不育的一个原因·····	36
44. 用免疫珠检测人精子膜表面的免疫球蛋白·····	37
45. 用高渗盐水洗涤免疫不育患者精子后其缺失的 WGA 受体重现·····	38

卫生学:

46. 上海胃癌发病因素 300 例病例对照研究·····	39
47. 人乳与牛奶中四种微量元素的测定·····	40
48. 上海市卢湾区散居居民营养调查·····	40
49. 某玻璃钢结构研究所接触苯乙烯工人的健康状况·····	41

寄生虫:

50. 循环阳极多糖抗原(CAA)在日本血吸虫感染家兔的动态检测·····	42
51. 血吸虫感染的循环抗原——关于组成和检测的讨论·····	42
52. 治疗和未治疗小鼠日本血吸虫病免疫应答的动态观察·····	43
53. 吡喹酮对小鼠日本血吸虫病化学预防作用的探讨·····	43
54. 寄生原虫超低温保存的研究——I. 弓形体速殖子·····	44
55. 寄生原虫的氨基酸分析研究——I. 溶组织内阿米巴滋养体·····	44
56. 寄生原虫的氨基酸分析研究——II. 弓形体速殖子·····	45
57. 用染色法鉴定弓形体速殖子的死活·····	46
58. 弓形体病血清学诊断的研究——I. 抗原收集与纯化·····	46
59. 弓形体病血清学诊断的研究——II. 酶标记 A 蛋白免疫吸附试验(PPA-ELISA) 用于检测实验家兔弓形体抗体·····	47
60. 弓形体病血清学诊断研究——III. 酶联吸附试验双抗体法测定弓形体抗原·····	47

61. 弓形体病血清学诊断的研究——Ⅳ. 弓形体人株和猪株可溶性抗原纯化与活性测定	48
62. 感染小鼠(C ₅₇ BL)体内日本血吸虫经吡喹酮治疗后体表变化的扫描电镜观察	48
63. 日本血吸虫虫卵抗原的纯化和分析	48
64. 上海淡色库蚊临界光周期的三年观察	49
65. 上海淡色库蚊滞育越冬蚊在冬季各月的比例	49
66. 淡色库蚊越冬复苏后繁殖潜力的观察	50
67. 上海三带喙库蚊临界光周期等的观察	50
68. 三带喙库蚊和淡色库蚊滞育生理反应的对照	51
针 麻:	
69. “内关”穴与心脏相关性的形态学研究(三)——心脏交感节后神经元和传入神经元的节段性	52
70. 延髓背部微量注射促神经素对猫胃运动的影响	52
71. 促神经素对不同脑分区的亮 脑啡肽及惊厥的影响	53
72. 促神经素的镇痛作用机理观察	54
73. 缬氨霉素钾微电极对肾上腺素、强心甙及Ca ²⁺ 影响心肌组织中钾离子活动的动态检测	54
计算机应用:	
74. PDP 11/23 学生成绩处理程序	55
医用生物材料:	
75. 上海市人工器官(不包括脏器)及其医用材料今后十年的预测报告选录	56
附: 列题论文目录	57

单次心跳的体表希氏束电图检测

生理教研室 边毓土 潘惟愉 宋杏娴 张鸿德 刘宝裕

上海科技大学生物医学工程教研室 王奎健 杨为群 王保华

本工作目的是为非损伤地检查心律不齐时的房室传导功能及判断房室传导阻滞发生的部位。我们试图从体表记录单次心跳的希氏束电图。本技术类似于 Shvartsman 等和 Flowers 等发表的方法。

实验在10条成年狗身上进行。体表引导电极的位置在相当于心尖搏动部位的胸前壁及与此相应的背部。为了进行空间相关处理,各安置四枚电极。经四路放大器放大 5×10^5 倍,而后进行模拟平均,逻辑判别,可控衰减等处理,引出单次心跳的希氏束电位。同时记录Ⅱ导联心电图和由心导管电极引导的希氏束电图,作为对照。为了进一步验证,还采用普鲁卡因胺和心得安等药物来改变希氏束电图的不同时程,从而观察体表和导管法的相关性。

实验结果见表一、表二

表一 10例正常狗对照的导管和体表法各时程的参数

动 物 号	P—H (ms)		H—Q (ms)		备 注
	导 管 法	体 表 法	导 管 法	体 表 法	
10	58	60	32	30	相关系数是测导管法和体表法之间的相关性。体表法和导管法显著性试验(t) $P > 0.05$, 无显著差异
11	71	70.8	25	25.2	
13	74	75.4	33	32.4	
15	82.2	82	27.4	27.6	
16	67	66.4	25.8	26	
17	65.4	66.8	33.8	32.4	
18	72.6	76.4	33	29.2	
19	62.2	62	26.6	26.8	
20	68.6	68.2	25	25.2	
21	73.4	74	37.8	37.2	
$\bar{X} \pm 3 E$	69.4 ± 2.1	70.2 ± 2.2	29.9 ± 1.4	29.2 ± 1.0	
相关系数	$r = 0.98$		$r = 0.86$		

表二 10例狗静注心得安、普鲁卡因胺后的导管和体表希氏束电图的比较

项 目	P—H (ms)			H—Q (ms)			备 注
	导 管 法	体 表 法	相 关 系 数	导 管 法	体 表 法	相 关 系 数	
用药前对照	69.4±2.1	70.2±2.2	r=0.98	29.9±1.4	29.2±1.0	r=0.86	
心 得 安 (0.8mg/kg)	75.5±5.7△	76.2±6.4	r=0.97	32.6±3.9○	3.00±2.5	r=0.95	
普鲁卡因胺 (40mg/kg)	90.8±15.8	92.1±15.7	r=0.98	43.6±14.4	42.2±14.5△	r=0.98	

用药后与对照组进行t试验:△表示 $P<0.05$,※表示 $P<0.01$,○表示 $P>0.05$ 。相关系数r是测定相同条件下的导管和体表参数间的相关性。

10条狗的实验结果表明:①我们研制的体表希氏束电图实时检测仪能够记录单次心跳的体表希氏束电图。②本实验结果具有良好的重复性。③体表和导管引导的希氏束电图在时间上相符,体表法H-Q时间为 $29.2\pm1.0\text{ms}$,导管法为 $29.9\pm1.4\text{ms}$ 。④普鲁卡因胺能延长P-H和H-Q时程,体表法P-H时间延长21.9ms,H-Q时间延长14.0ms,而导管法分别延长21.4ms和13.7ms。心得安只延长P-H时程,体表法延长6ms,导管法延长6.1ms。在体表和导管法的结果上可看到的这些变化说明二者有显著的相关性。

此外,在二例正常人的体表,用同样记录方法也能记录到单次心跳的希氏束电图。为进一步在人体研究体表希氏束电图提供了一个新的可供探索的方法

抗心律失常新药心律平对心室肌

快反应动作电位的影响

生理教研室 徐有秋 刘远谋 梅岩艾 高汝昌

协作: 第九人民医院内科 徐济民

心律平(Rytmonom, Propafenone)是国产抗心律失常新药(广州医药工业研究所),临床治疗快速型心律失常有效。国外药理研究指出,心律平属于具有局麻作用的I类抗心律失常药物。本文采用常规细胞内微电极技术,观察了心律平注射剂对豚鼠心室乳头肌快反应动作电位的电生理效应。实验结果表明,心律平在临床治疗剂量范围内,对膜电位无明显影响,其主要作用是降低动作电位0期最大除极速率($V_{\max}$),在1.4,2.8,4.2微克/毫升浓度时使 $V_{\max}$ 值分别降低至对照值的85.7%,73.3%,61.0%($P<0.01$),动作电位时程(APD)缩短,动作电位幅值轻度降低,上述电生理效应呈剂量依赖型。

心律平对 $V_{\max}$ 的抑制作用呈明确的电位依赖性($E_{0.5}$ 从 -68.0mV 移到 -73.6mV)和频率依赖性,即除极越多,心率越快,药物的抑制作用越强。在药物作用下,心肌的有效不

应期相对延长, ERP/APD 从 90.7% 增加到 98.4%, 较大剂量时刺激的阈强度升高, 强度—时间曲线上移, 表明兴奋性降低。传导速度的降低、有效不应期的相对延长和兴奋性的降低都有助于阻断折返激动而发挥抗心律失常的作用。

抗心律失常新药心律平对心肌 慢反应动作电位和离子流的影响

生理教研室 徐有秋 刘远谋 高汝鼎 梅岩艾
第九人民医院内科 徐济民

在心律失常的发生机理中, 以钙离子内流为基础的慢反应动作电位、缓慢传导和平台振荡(早期后除极)起着重要作用。本文采用常规心肌细胞电生理技术和电压钳制术, 观察了心律平对心肌慢反应动作电位和浦肯野纤维跨膜离子流的影响。实验结果表明, 心律平在临床单次注射剂量浓度下(1.4微克/毫升), 对膜电位无显著影响, 使动作电位O期最大除极速率降低到对照值的 70.8%, 动作电位时程缩短到对照值的 87.4%, 与此同时, 有效不应期却延长到对照值的 115.3% ($n=7$, $P<0.01$)。心律平对动作电位O期最大除极速率的抑制作用呈频率依赖性。此外, 心律平也使慢反应动作电位幅值轻度降低。

心律平在较大剂量时(2.8微克/毫升), 能使刺激的阈强度提高, 强度—时间曲线上移, 表明对慢反应动作电位的兴奋性具有抑制作用, 对浦肯野纤维能抑制其平台膜电位振荡, 减少慢内向离子流, 表明它对心肌钙通道有阻断作用。

心律平对慢反应动作电位和平台振荡的抑制作用以及它的延长不应期、降低兴奋性, 及频率依赖性效应, 都有助于消除异位节律、阻断折返激动, 从而发挥抗心律失常作用。

微电脑控制可编程序刺激器

生理教研室 王坚一

心肌电生理实验中需要用到各种可变的刺激模式, 普通刺激器不能满足要求, 在没有专门的「程序刺激器」的情况下, 我们使用 CMC-80 单板微型计算机和普通刺激器, 用计算机软件控制刺激以达到实验的要求。程序中包括心肌电生理常用的四种刺激模式, 稍加修改便可扩展其他刺激模式。使用者首先用按键选择刺激方式, 接着输入各种所需的参数, 时间参数的允许范围为 1~9999 毫秒, (某些方式时可达 65 秒)。程序能自动对输入参数的可执行性进行检验。在执行过程中, 充分利用单板机上的显示发光管和按键盘以实现人机对话, 发光管显示必要的信息, 让使用者能随时了解执行的情况, 同时使用者可根据需要随意按某些

键以改变执行过程。此方法经本教研室心肌细胞电生理实验室使用,证明具有操作灵活,简便,可靠等优点,能达到国外生产的专用「程序刺激器」的要求。是一种实现可编程序刺激的有效可行的方法。

程 序 刺 激 器

上海国泰电讯器材厂 王彼德

测试中心 蒲建宏

生理教研室 高汝昂

心肌电生理实验中,往往要研究在刺激频率突然变化的情况下,心肌细胞各种离子通道开放或闭合的动力学改变及各种因素对离子通道的动力学特性的影响;还要考察在每若干次基本节律刺激后加入一次额外刺激所引起的电生理变化,据此判断心肌细胞兴奋性的周期性变化,测出不应期,并获取在变动各种因素时,心肌细胞兴奋性的变化规律。

鉴于目前国内尚无实现以上要求的专用刺激器,我们主要采用 CMOS 数字集成电路研制了可编程的程序刺激器,实现了根据上述实验需要预先设定刺激方式并按设定方式执行的功能。

本文介绍的即是该程序刺激器的工作特点,原理和仪器的结构特色。

文中介绍了作者研制的“只控”电路如何实现若干次基本节律刺激后加入一次额外刺激及如何使该额外刺激按设定的步长逐次前移或后移的原理和方法。

由于本机采用石英晶体振荡器作时基信号发生器,精度高且稳定可靠,全部参数由数字拨盘开关和三位数码管显示在面板上,既直观,便于调节,又避免了测试误差,为心肌电生理效应检测提供了一种实用的必备仪器。

本仪器的研制要求由徐有秋副教授提出,在整个研制过程中得到了他的指导和支持。

生 化

人外周血白细胞DNA的分离纯化

生化教研室 周丹宜 孔良曼 陈诗书

为了观察 DNA 分子上基因与某些生理现象(如白细胞抗原分型)或疾病发生(如肿瘤的发生)的关系,首先必须分离纯化细胞的 DNA 以作为研究材料。我们用比较简便的方法,从人外周血白细胞中抽提得到相当纯粹的 DNA,取血量只需 5 毫升或少于 5 毫升,除了冷冻高速离心机和两种酶(核糖核酸酶和蛋白酶 K)外,不需其他特殊设备和试剂。整个分离纯化过程在二天内可以完成,得到的 DNA 在低温冰箱中可保存数月不致变性。

方法概括如下:

5 毫升肝素抗凝血和 5 毫升 1.8% NaCl 以及 5 毫升 6% 右旋糖酐(分子量 9 万)混和后静置约 $\frac{1}{2}$ 小时,此时绝大部分红细胞下沉,将上层液体于 4℃、2000 转/分离心 20 分钟,弃去上清液,将沉块与 5 毫升 0.87% NH_4Cl 混和后置 37℃ 水浴中 20 分钟以使红细胞溶血,4℃、2000 转/分离心 20 分钟使白细胞下沉,在沉淀块中加入白细胞破膜缓冲液和去污剂 SDS(终浓度 0.5%)及蛋白酶 K(终浓度 0.2 毫克/毫升),37℃ 水浴中振摇 2 小时,此时白细胞膜和核膜等充分破碎溶解,释出 DNA、RNA 和蛋白质等。以后再用苯酚抽提法以除去蛋白质。然后对缓冲液透析 24 小时以充分除去苯酚。透析袋内液体取出后于其中加入核糖核酸酶(终浓度 50 微克/毫升),37℃ 保温 1 小时使 RNA 水解,再加蛋白酶 K 和 SDS 浓度同前,37℃ 保温 $\frac{1}{2}$ 小时,然后苯酚抽提和透析同前,最后取出透析袋内液体,调节 NaCl 浓度至 0.2M,加入 2.5 倍体积的冷无水酒精,此时可看到长纤维状 DNA 沉淀出,可置低温冰箱中保存备用。

文献报道制备人体 DNA 时,每次实验至少要抽取血液 20 毫升。而用上述改进的方法,5 毫升血的白细胞可抽提得到约 100 μg 的 DNA,足够供 10 次实验用,所得 DNA, $\text{E}_{260}/\text{E}_{280}=1.9$,完全符合要求。

λ DNA 的制备

生化教研室 孔良曼 周丹宜 陈诗书

在分子生物学实验中, λ DNA 常作为基因载体和内切酶水解片段电泳时的标志物,是不可缺少的一个工具。在购买困难的情况下,我们决定自己制备。从大肠杆菌溶源菌株 E. Coli λ -CI 857S7 中分离纯化了少量 λ -DNA,经内切酶 EcoRI 和 Pst_I 水解后所得片段的电泳位置完全符合文献,证明质量是合格的。

方法概括如下:

溶源菌在 LB 培养基中扩增培养至一定程度时 45℃ 热诱导 25 分钟; 然后 37℃ 培养 3 小时使 λ -噬菌体在菌体内装配并增殖; 再离心分离菌体, 悬浮于 SM 缓冲液中, 加入 DNase 和溶菌酶并保温一定时间, 使细菌溶破, 释出 λ -噬菌体, 菌体 DNA 则被酶水解; 离心以除去细菌碎片, 所得上清液即为 λ -噬菌体液。再经 10,000 转/分离心 15 分钟; 上清液超速离心 (20,000~30,000 转/分) 70 分钟, 沉淀即为噬菌体, 可加少量 SM 缓冲液, 然后加 λ SDS 和蛋白酶 K 以破坏噬菌体的蛋白外壳, 释出 λ -DNA, 再用苯酚抽提除去蛋白质, 最后透析 24 小时, 透析袋内液体即为 λ DNA 溶液。

所得 λ -DNA 制剂, 经琼脂糖凝胶电泳分析发现无大肠杆菌染色体 DNA 的污染, 经内切酶 Eco RI 水解, 得 6 条片段, 经 Pst I 水解可得十多条片段, 目前正在改进方法以提高 λ -DNA 的得量?

限制性内切酶 EcoRI 的提取和鉴定

生化教研室 章有章 郭蕙芬 陈诗书

近年来限制性内切酶在基因工程和分子生物学研究中被广泛的应用, 可以说限制性内切酶的发现是 DNA 研究中的一个革命。为了争时间使工作早日上马, 我们在肿瘤研究所支持下, 参考文献从特殊的大肠杆菌菌株 Ecoli RY 13 中提取了最常用且水解 DNA 后能产生粘性末端的限制性内切酶 EcoRI, 活性达到了国内外的水平。

酶的提取分离: 在无氧条件下将此菌株接种于含酵母提取液、蛋白胨的培养基中进行繁殖扩增, 涂片染色鉴定, 经冷冻高速离心取得沉淀菌体, 悬于磷酸缓冲液中超声破膜, 再离心得到酶的提取液, 加入特殊的核酸沉淀剂聚乙烯亚胺 (PEI) 离心去除核酸, 上清液加硫酸铵达 70% 饱和度沉淀酶蛋白, 经离心再溶解后经特殊的亲和层析柱, 即用肝素和溴化氰自制的肝素-Sepharose 4 B 分离纯化, 用 0~0.8 M 氯化钠的 Tris-HCl 缓冲液进行直线梯度洗脱, 分段收集 280 nm 紫外检测, 可分得七个洗脱峰, 酶活性出现在第五个峰中, 合并各管甘油浓缩, 再过磷酸纤维素柱进一步层析纯化, 收集具有酶活性的峰合并浓缩。以上操作均在 4℃ 低温下进行, 提取纯化酶的试剂中均加入巯基乙醇和 EDTA 以保护酶活性。

酶活性鉴定: 以我们课题组提取的 λ 噬菌体 DNA 作底物, 其分子上具有五个 EcoRI 的切点, 在镁离子存在下此 DNA 被内切成六个片段, 经 1% Agarose 凝胶电泳分离、溴乙锭 (EB) 染色后在暗室紫外灯鉴定, 可见六条荧光区带。柱层析各分段收集液均用此法定性检测酶活性的所在, 酶液也经不同比例稀释后水解 2 微克 λ 噬菌体 DNA 经电泳定量测定酶的活性。一个酶活性单位为经 37℃ 保温 1 小时后能完全水解 1 微克 λ 噬菌体 DNA 的酶量。我们提纯的二批限制性内切酶 EcoRI 制剂活性为每微升 12 单位, 总数毫升数万单位, 价值几百英镑, 加 50% 甘油, -40℃ 低温冰箱保存, 已足够我们初步开展分子生物学研究工作的需要。

人淋巴细胞中的腺苷脱氨酶

生化教研室 章有章 郭慧芬 陈诗书

新华医院儿内科 应大明

腺苷脱氨酶 ADA (EC 3. 5. 4. 4) 是核酸分解代谢中的一个关键酶, 它催化腺苷水解脱氨生成次黄苷, 后者在磷酸化酶作用下再脱糖生成次黄嘌呤。1972 年 Giblett 首先报道了原发性免疫缺陷病孩红细胞中该酶活性降低, 并曾第一个在临床上用此酶作了替代治疗。获得性免疫缺陷病和白血病时此酶活性亦有异常, 人肠肿瘤组织中该酶分子结构和同功酶谱也有改变, 小鼠不同分化成熟程度的胸腺细胞及外周血淋巴细胞中该酶活性有显著差异, 淋巴细胞经 PHA 刺激后腺苷脱氨酶活性升高, 因此提出了腺苷脱氨酶是 T-淋巴细胞分化成熟标志酶的观点。

我们曾用紫外分光法测定了部分正常人和病人红细胞中该酶的活性, 由于灵敏度不高, 若测定外周血淋巴细胞中的活性, 需抽血 10 毫升结果尚欠稳定, 但对免疫缺陷病, 分析淋巴细胞无疑比分析红细胞更有意义, 故参考文献建立了以 $8\text{-}^{14}\text{C}$ 标记的腺苷作底物, 与酶保温经荧光纤维素薄板层析将底物与产物分离, 将产物处纤维素刮下进行液闪计数的同位素酶活性测定法, 一次需血量 3 毫升做三复管 (10^6 淋巴细胞) 灵敏度比分光法提高一个数量级, 结果也较稳定。我们用此法测定了二十二例正常人外周血淋巴细胞中腺苷脱氨酶活性正常值为 30.5 ± 11.7 。也观察到一例免疫缺陷儿童外周血红细胞中该酶活性降低, 淋巴细胞中多次测定为零, 细胞免疫指标玫瑰花环形成试验和淋巴细胞转化试验亦偏低, 体液免疫指标血清免疫球蛋白量降低, 病孩住院经激素、输血、注射免疫球蛋白等治疗后症状改善, 淋巴细胞中腺苷脱氨酶活性接近正常。我们也随访了其家属父、母、弟发现父血中酶活性也偏低。本病为常染色体隐性遗传病。免疫反应和核酸代谢的关系近年来有了较大的进展, 该酶缺失引起免疫缺陷的机制主要是使脱氧腺苷、继而脱氧腺苷酸 (dATP) 堆积, 后者经变构作用反馈抑制了核糖核苷酸还原酶的活性, 从而引起脱氧核苷酸缺乏、淋巴细胞 DNA 合成时原料的饥馑。

小鼠胸腺细胞花生凝集素受体的荧光定量

生化教研室 上海市免疫学研究所免疫生化室 基础免疫研究室

邵幼吾 郑新民 王万超 徐荣婷 陈诗书

用异硫氰酸荧光素标记的花生凝集素 (FITC-PNA) 来定量测定 CFW 小鼠胸腺细胞表面的花生凝集素受体。

$8 \times 10^5/\text{ml}$ 的胸腺细胞悬液与 $20 \mu\text{g}$ FITC-PNA, 置冰浴保温 2 小时, 反复用 1640 培养

液洗涤胸腺细胞,以除去未结合的 FITC-PNA,接着将结合在细胞上的 FITC-PNA 用半乳糖洗下来,最后于荧光分光光度计激发光波长 495nm 和发射光波长 517nm 测其荧光度,以表示结合在胸腺细胞上的 FITC-PNA 量。我们比较系统地研究细胞数和 FITC-PNA 浓度的关系、FITC-PNA 与胸腺细胞结合的时间及比色测定的条件,从而确立荧光定量分析的最适条件,结果得出(8×10^6 /ml)胸腺细胞可结合 16.6 ± 3.7 微微克分子数的 PNA,且对小鼠胸腺和脾脏细胞的荧光定量与荧光定性实验进行了比较。实验结果提示:荧光定性技术可在细胞水平反映形态学的定性和数量特征,而荧光定量分析法能客观地反映胸腺细胞表面 PNA 受体数量的变化。

小牛胸激肽在体外对CFW小鼠 胸腺细胞PNA受体的影响

生化教研室 上海市免疫学研究所免疫生化室

郑新民 徐荣婷 陈诗书

胸腺内含有许多肽类物质,对淋巴系统细胞的发育、分化和成熟起着调节的作用。

我们用花生凝集素(PNA)来分离5~7周令的小鼠胸腺细胞:85%~90%的细胞被PNA凝集,称为PNA阳性细胞;10%~15%不凝集为PNA阴性细胞。另外,我们曾用细胞表面碘化法及免疫沉淀法来测定这两类胸腺细胞表面抗原(H-2、Qa $\frac{2}{3}$ 、TL及gp70),结果发现PNA阳性细胞表面抗原的表现属未成熟型,而PNA阴性细胞表面抗原则属成熟型。因此,胸腺细胞PNA受体的变化情况与胸腺细胞的分化成熟有一定的关系。以前,对胸腺细胞PNA受体的测定,多数是用细胞与荧光素标记的PNA(FITC-PNA)结合后,于荧光显微镜下观察计算PNA阳性细胞的百分数,但此方法只能反映PNA的阳性或阴性细胞。为了寻求能反映胸腺细胞PNA受体定量变化,故建立了一种小鼠胸腺细胞PNA受体荧光定量分析的方法。

5~7周令小鼠胸腺细胞与小牛胸激肽在完全RPMI 1640培养液中,37℃温育20小时,洗涤,加FITC-PNA置冰浴2小时,洗涤,加半乳糖液置37℃保温1小时,以完全RPMI 1640细胞悬液为空白对照,最后结合在细胞上的FITC-PNA全部被半乳糖洗下来,于荧光分光光度计测其荧光度,以表示结合在细胞上的FITC-PNA量,从而反映胸腺细胞PNA受体的变化情况。胸腺细胞PNA受体的降低量与胸激肽的浓度成依赖关系。结果表明:小分子提取物与胸腺细胞温育2小时未见降低效应;10小时后开始出现降低效应;20、48和72小时后降低效应趋向平坡。经酸、碱、热和RNase处理后,仍有使细胞表面PNA受体降低的效应,而用Proteinase K和Pronase E处理后,其活性消失。将上述分子量小于12,000的胸激肽经Sephadex G-25凝胶过滤,得四个峰,活性成分集中在第1峰和第4峰内。

儿童尿液中唾液酸、岩藻糖、己糖及氨基己糖 的测定及其临床应用

生化教研室 孙月霞

本文探讨用测定 24 小时尿及晨尿中唾液酸、岩藻糖、己糖及氨基己糖组份来反映粘多糖量的变化。共计测定 24 例正常儿童、6 例粘多糖病患者、8 例垂体性侏儒症和甲减呆小症以及 16 例骨发育不好、智力低下的儿童，其年龄均在 2~8 岁。所测上述组份的浓度，晨尿分别以 mg% 以及 mg/克肌酐表示，24 小时尿是以 mg/24 小时尿量表示。

实验结果：晨尿中游离唾液酸浓度：正常者为 $4.81 \pm 0.33(\text{mg}\%)$ ， $72.06 \pm 2.93(\text{mg/克肌酐})$ ，粘多糖病患者为 10.93 ± 1.58 ， 100.25 ± 11.14 ；总唾液酸浓度：正常者为 7.0 ± 0.36 ， 124.79 ± 5.99 ，粘多糖病患者为 17.50 ± 1.44 ， 220.63 ± 16.39 ；岩藻糖浓度：正常者为 5.69 ± 0.35 ， 103.79 ± 7.51 ，粘多糖病患者为 23.73 ± 5.44 ， 296.14 ± 50.77 ；己糖浓度：正常者为 48.88 ± 5.35 ， 974.44 ± 90.57 ，粘多糖病患者为 159.29 ± 24.38 ， 2325.63 ± 370.02 ；氨基己糖浓度：正常者为 7.47 ± 0.59 ， 85.06 ± 45.79 ，粘多糖病患者为 48.44 ± 18.71 ， 650.19 ± 286.14 。晨尿中上述各组份浓度的实验结果，粘多糖病患者与正常儿童比较各种组份均呈显著性的增高。其它患病组儿童包括垂体性侏儒症和甲减呆小症以及骨发育不好，智力低下的儿童，上述各组份的浓度比正常儿童也都有一定程度的增高。

本实验还观察了晨尿和 24 小时尿样各组份变化的关系，结果 24 小时尿样各组份浓度与晨尿各组份浓度呈正相关，说明晨尿样品测定结果即能反映其排泄量的变化，可省去收集 24 小时尿样的措施。

药 理

用定量薄层分析法测定胍嗪啉及其代谢物

药理学教研室 谢国斌 P.J.Meier

胍嗪啉 (Debrisoquine) 在体内主要在 4 位羟化失活, 它不仅是一个抗高血压药, 还是一个研究药理遗传学的工具药。下面介绍一种较简易的测定分法。

收集受试者服胍嗪啉后 8 小时尿液, 贮于 -20°C 冰箱内备用。按下表加入各种试剂及尿液样本于分液漏斗中(表中数字为ml数):

	1	2	3	4	5	6	7	8
胍嗪啉溶液 5mg%	—	0.05	0.1	0.2	0.4	—	—	—
4 羟胍嗪啉溶液 5mg%	—	0.05	0.1	0.2	0.4	—	—	—
水	2.0	1.90	1.8	1.6	1.2	—	—	—
尿 液	—	—	—	—	—	2.0	2.0	2.0
50mg%BTB 缓冲液	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
3%异戊醇氯仿液	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0

振摇 5 分钟, 弃去水相, 各取有机相 10ml 放于梨形瓶中, 通入氮气干燥之, 最后以乙醇乙酸氯仿混合液 50 μl 溶解, 各取 20 μl 滴于薄层板上, 将此薄层板放于含有展开剂密闭标本缸内, 展开到一定刻度取出晾干, 即可在薄层扫描仪上进行扫描, 可得到不同 R_f 值的两个峰, 胍嗪啉的 R_f 为 0.36, 4 羟胍嗪啉为 0.28。根据多次实验结果, 在一定范围内药量与峰高成比例 ($r = 0.97 \sim 0.99$), 从尿液样本测得的峰高与同一次实验的标准曲线比较, 即可得到尿液样本中胍嗪啉和 4 羟胍嗪啉的含量。文献中常计算胍嗪啉 4 羟胍嗪啉的比值, 大于 12.6 者称代谢良好者 (EM), 小于 12.6 者称为代谢不良者 (PM)。

应用本方法测定 54 例 (健康者和部分病人) 尿液样本, 结果 EM 为 47 例, PM 为 5 例, 可疑为 2 例。从结果看, PM 的比例与文献记载欧洲人 PM 比例相近。

本方法具有简便快速的优点, 但还存在一定问题, 线性范围不广, 尿中含量甚低或甚高时, 就会超出线性范围, 必须将尿液浓缩或稀释至一定程度, 才可测定。另外有一名肝病患者, 出现假 PM 现象, 用本法测定属 PM, 而用气相层析法测定为 EM。因此, 克服上述存在的问题, 是使本方法推广使用的重要环节。

氢化可的松(HC)对急性严重 失血家兔的保护作用

药理学教研室 姚谓珍 周冠怀* 钟运琴 金正均

我室以前发现循环衰竭的麻醉家兔对Ad反应异常:表现为Bp不升,交感神经电活动不抑制,而且此现象一旦出现,数分钟内动物必然死亡。我们企图找到一种能预防或治疗此异常反应的药物,氢化可的松是第一个中选受试的药物。

方法:家兔用乌拉坦麻醉,交感电活动取自内脏神经节后纤维,血压录自颈动脉。电活动通过积分器与Bp作同步描记。

结果:一、对照组:不用药,3小时内,Bp轻微下降,但交感电活动积分平均减少27%。二、氢可(HC)组:则交感积分增加24%,而Bp微降或不降。三、放血对照组:颈动脉放血25ml/kg,Bp剧降,交感活动大增,为放血前266%。四、放血氢可组:Bp亦下降,但高于对照,交感发放亦有所下降,仅增加73%。五、从死亡率比较,见下表:

	存 活	死 亡	p*
放 血 对 照 组	0	8	
放 血 HC 组	1	7	0.5
放 血 Ad 组	3	5	0.1
放 血 HC+Ad 组	5	3	0.0128

• 各组与对照比。

由上表可见合并组疗效显著($P:0.0128$),Q值为1.38,故为增强。

讨论:1. HC能减缓机体对放血反应,交感活动亦有所下降;2. 单纯HC,防止死亡力量不及Ad;3. HC能显著增强Ad的保护作用。HC使交感神经不过份活动,从而避免衰竭,这一点可能解释HC增强Ad的作用。HC的细胞机制——保证效应器正常反应——有待研究,4. HC合并应用升压药物是有药理基础的。

注 1. HC组:放血前3小时静注氢可琥珀酸钠25~50mg/kg。

2. Ad组:放血后每15分钟静注3 μ g Ad/kg。

3. Q值>1.15为增强。

拟肾上腺素药对家兔交感神经电活动的影响

药理教研室 金正均 周冠怀* 徐惠芳

注射肾上腺素(Adr)后交感神经冲动发放减少,人们常同减压反射这一经典学说来解释,但是另有一些实验发现 Adr 对交感神经冲动的传递有抑制作用,深入了解拟肾上腺素药对交感神经的作用有助于进一步了解血压的神经体液调节机制和拟肾上腺素药临床应用的药理基础。

我们用电生理方法定量研究了升压药对麻醉家兔血压和交感神经电活动的作用。实验分五组,第一组,6只动物静脉注射1,3.9ug/kg的 Adr后,血压上升,内脏神经节后纤维冲动发放(SND)明显抑制,剂量越大,SND抑制也越显著,第二组的6只动物比较血管紧张素(AGT)和Adr的作用,结果见表,发现AGT虽然也能引起SND抑制,但其抑制作用并不随着血压上升而增加,其最大抑制达30%左右,而Adr则能完全抑制交感发放,使SND消失,当两药的升压效应相仿时,Adr对SND的抑制作用明显大于AGT;切断减压神经后Adr对SND的交感抑制作用仍然存在,而AGT的交感抑制作用消失($P<0.001$)。显然AGT是通过减压反射途径使SND抑制,而Adr除了减压反射外还另有其它抑制SND途径。第三组和第四组,各6只动物,分别注射去甲肾上腺素(NA)或阿拉明(Ara),与Adr一样,都能使血压升高SND抑制,其抑制程度和剂量有关。第五组10只动物同步描记内脏神经节前和节后纤维的电动,注射Adr后,节前纤维SND抑制程度很小,持续时间短,最大抑制在36%左右而节后SND抑制作用显著得多,89%左右($P<0.001$),持续时间也长。且发现节前节后纤维活动不完全同步,当节前纤维有冲动发放时节后纤维可处于完全抑制状态,当节前纤维发放冲动变化不大时节后纤维冲动发放可处于逐渐恢复状态,由此看出注射拟肾上腺素药后,由心血管中枢发出的节前纤维的冲动并不是全部传到节后纤维,通过神经节可以抑制冲动传递,使节后发放减少,甚至消失。

Adr和AGT作用的比较

剂 量 (ug/kg)	BP ↑ (mm Hg)		SND抑制(%)	
	AGT	Adr	AGT	Adr
1	29±8.5	24±10.2	23.9±17.0	52.9±20.1*
3	44±15.4	38±11.8	24.4±14.8	72.0±21.8*
9*	49±18.3	54±9.2	31.0±23.6	77.5±26.1*

* AGT剂量为5ug/kg、Adr剂量为9ug/kg;

* $P<0.05$; ** $P<0.01$ $n=6$

*研究生

本文定量分析了 Adr, NA 和 Ara 对升高家兔血压和 SND 的抑制作用,发现当剂量增大时,血压上升和 SND 抑制作用均相应增大,但增大程度却是不同的。若以对数剂量 $\lg(x+1)$ 为横坐标,血压升高或 SND 抑制为纵坐标计算出直线回归方程,并对斜率进行比较,发现在我们使用的剂量范围内, ARA 抑制 SND 作用的斜率最大 ($P < 0.001$),而其升压作用的斜率却最小 ($P < 0.001$), Adr 与 NA 的 SND 抑制作用的效应曲线大致平行的,提示 Ara 的 SND 抑制作用与 Adr 和 NA 是不尽相同的。

实验结果提示, Adr、NA、Ara 有抑制 SND 作用,与 AGT 不同,这不仅是减压反射的结果,也是直接抑制作用的结果,完全抑制是药物直接作用引起的。抑制部位在交感神经节。这种作用途径可归纳为:注射拟肾上腺素药后→血液中儿茶酚胺增加→交感神经节的冲动传递被抑制→交感神经节后冲动发放减少→节后神经末梢交感递质的释放减少。我们认为这是经交感神经节调节的局部神经-体液反馈途径,是机体的必需反应。ARA 有较强的抑制 SND 作用,休克时应用 Ara 能降低处于饱和状态的交感兴奋性,以恢复交感神经系统在内环境平衡和应激中的调节作用,而又保持了对心血管等效应器官的兴奋作用,这是一种有益于机体的措施。

心福甙分离物—铃兰毒甙对离体心肌细胞 电生理特性的影响

药理教研室 张景夏 王秀宜 陈延连 汤德生 刘学技 顾培堃 金正均

心福甙 (Adonin) 系中药福寿草的提取物。据临床报告,心福甙能有效地控制房性及室性早搏。为探讨心福甙抗心律失常的有效成份,对其分离的单体结晶分别进行观察。铃兰毒甙是心福甙中含量较高的成份之一,且铃兰毒甙对心肌电生理指标的影响在国内外还未见有报导。本文应用电生理技术观察了铃兰毒甙对兔、犬心室肌、浦氏纤维及乳头肌细胞动作电位及肌张力的影响,并与铃兰草提取物—铃兰毒甙及西地兰进行比较。

结果表明:以 $0.2\mu\text{g/ml}$ 铃兰毒甙灌流 30 分钟后,心肌细胞 APD_{50} 及 ERP 均缩短, V_{max} 减少;浦氏纤维 APD_{50} 、ERP 均延长, V_{max} 增大,自律性增加;乳头肌 APD_{50} 缩短,同时肌张力增加。经统计处理 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 。铃兰毒甙对心肌细胞动作电位的影响与已知强心甙 (铃兰草提取物—铃兰毒甙及西地兰) 作用相似。

资料提示,铃兰毒甙与西地兰等一样具有强心甙的电生理特性,为其临床应用提供了理论根据。