

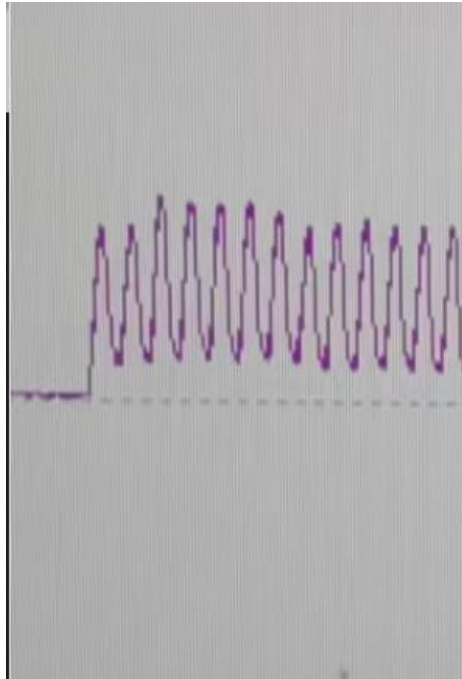
一、实验题目

离体蛙心灌流

二、实验结果及分析

1. 正常蛙心搏动曲线

正常蛙心搏动曲线原始曲线图



分析观察指标

注意观察心率、心肌收缩幅度（强弱）和舒张程度（是否完全）

蛙心搏动曲线幅度：体现出心脏收缩的幅度。

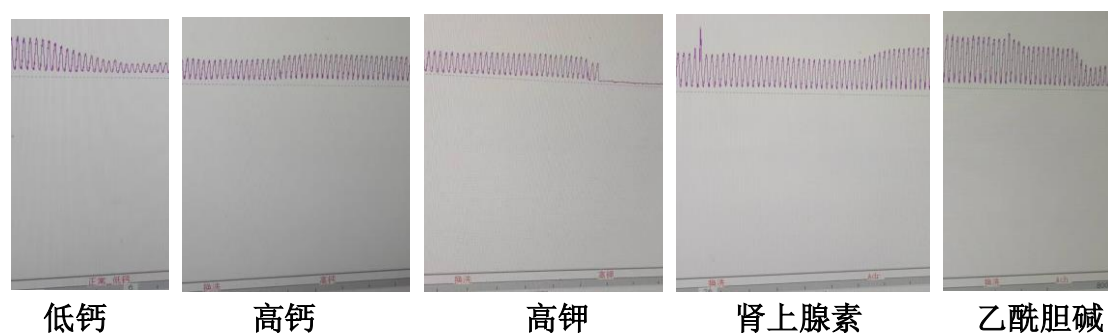
蛙心搏动曲线密度：心搏频率。

蛙心搏动曲线最低点：代表心室舒张的程度。

- 1、描记正常的蛙心搏动曲线。注意观察心搏频率及心室的收缩和舒张程度。
- 2、把蛙心插管内的任氏液全部更换为 0.65%NaCl 溶液，观察心搏变化并标记。
- 3、把 0.65%NaCl 溶液吸出，用新鲜任氏液反复换洗数次，待曲线恢复正常时，再在任氏液内滴加 2%氯化钙溶液 1 至 2 滴，观察心搏变化并标记。
- 4、将含有氯化钙溶液的任氏液吸出，用新鲜的任氏液反复换洗，待曲线恢复正常后，在任氏液中滴加 1%KCl 溶液 1 至 2 滴，观察心搏变化并标记。
- 5、将含有 KCl 的任氏液吸出，用新鲜的任氏液反复换洗，待曲线恢复正常后，再在任氏液中滴加 1:10000 的肾上腺素溶液 1 至 2 滴，观察心搏变化并标记。
- 6、将含有肾上腺素的任氏液吸出，用新鲜的任氏液反复换洗，待曲线恢复正常后，再在任氏液中滴加 1:10000 的乙酰胆碱溶液 1 至 2 滴，观察心搏变化并标记。

2.不同药物对蛙心搏动的影响

不同药物作用下蛙心搏动的原始曲线图



分析作用机制

1、低钙（0.65%NaCl 溶液）

心肌的舒缩活动与肌浆中的钙离子浓度高低有关，当钙离子浓度升高至 10^{-5}mol/L 时，肌钙蛋白结合了足够的钙离子，这就引起肌钙蛋白分子构型的改变，暴露肌动蛋白上的横桥结合位点，引发横桥与之结合，从而触发肌丝滑行，肌纤维收缩。当肌浆中的 Ca^{2+} 离子浓度降至 10^{-7}mol/L 时，钙离子与肌钙蛋白解离，心肌随之舒张。

灌流 0.65%NaCl 溶液后，心跳减弱。因为 0.65%NaCl 溶液中缺少钙离子，所以导致心肌细胞动作电位 2 期内流钙离子减少，由于心肌肌质网不发达，非常依赖胞外钙离子，溶液中低钙将导致细胞质钙离子浓度减少。钙离子是重要的兴奋-收缩耦联因子，钙离子在心肌中还有触发二联管释放钙离子的作用，钙离子缺少影响心肌二联管进一步释放钙离子，影响兴奋-收缩耦联过程，心肌的收缩活动随之减弱。如果长时间用 0.65%NaCl 溶液灌流蛙心，心脏最终会停止收缩，但心肌仍能产生动作电位，这种现象称为兴奋-收缩脱耦联，是心肌细胞内缺少钙离子的表现。

2、高钙（2%氯化钙溶液）

细胞外钙离子在细胞膜上对钠离子内流有竞争性抑制作用，胞外钙离子浓度增加，则钠离子内流受抑制，心室肌细胞 0 期去极化速度与幅度减小，使兴奋性及传导性降低，心室肌细胞 2 期（平台期）缩短，有效不应期缩短，复极化加速。而对于慢反应细胞如窦房结和房室结细胞来说，胞外钙离子浓度增高使钙离子内流增多，因此慢反应细胞 0 期去极化加快加强。从兴奋-收缩耦联过程来考虑，钙离子内流增多，细胞质钙离子浓度上升，使心肌收缩能力增强。因此加入 2%氯化钙溶液后，蛙心收缩力增强，但舒张不完全，收缩基线上移。

3、高钾（1%KCl 溶液）

滴加 1%KCl 溶液后发现，心搏曲线的频率逐渐减小，愈来愈疏，幅度逐渐下降，最后停止在基线处，即心脏停搏于舒张状态。因为当细胞钾离子浓度增高时，钾离子与钙离子有竞争性拮抗作用，钾离子抑制细胞膜对钙离子的转运，使进入细胞内钙离子减少，心肌的兴奋-收缩耦联过程减弱，心肌收缩力降低。所以心搏曲线幅度减小。同时，细胞外钾离子浓度升高时，膜内外的钾离子浓度梯度减小，静息电位的绝对值减小，阈电位与静息电位之间

的差值减少，使得兴奋性提高。但当细胞外 K^+ 浓度显著升高时，静息电位的绝对值过度减小，电压门控性钠离子通道失活，心肌的兴奋性完全丧失，心肌不能兴奋和收缩，停止于舒张状态，让心搏曲线停止在基线处。

4、肾上腺素（1:10000 Adr）

肾上腺素有正性变力，变时，变传导作用。滴加肾上腺素后，蛙心收缩增强，心脏舒张完全，描记的心搏曲线幅度明显增大。肾上腺素可与 α 、 β_1 和 β_2 受体结合。在心脏，由 β_1 受体产生正性变时和正性变力作用，增加心输出量。肾上腺素与心肌细胞上的 β 受体结合后，可以 **1、加强 4 期的内向电流**，使自动去极化速率加快，窦房结自律性频率变高，心率加快（**正性变时**）。**2、降低肌钙蛋白与钙离子亲和力**，促使肌钙蛋白对钙离子的释放速率增加，提高肌浆网膜钙泵与钙离子的亲和力，刺激钠离子与钙离子交换，使复极期向细胞外排出钙离子的作用加速，使心肌舒张速度增快，整个舒张过程明显增强。**3、通过 G 蛋白-AC-cAMP-PKA 通路使胞内 cAMP 水平升高**，心肌细胞膜中的 L 型钙通道磷酸化激活，开放概率增加，慢反应细胞 0 期动作电位的上升幅度增大，去极化加快，房室传导时间缩短（**正性变传导**），钙内流增加，内流的钙又激活 JSR 中的受体引起钙触发钙释放机制，引起**正性变力作用**。

5、乙酰胆碱（1:10000 Ach）

乙酰胆碱有负性变力，变时，变传导作用。蛙心收缩减弱，心率减慢，最后出现蛙心停止舒张阶段。乙酰胆碱使蛙心收缩减弱，收缩曲线基线下移，心率减慢。乙酰胆碱可以与心肌细胞膜上的 M 型受体结合。激活 I_{K-Ach} ，复极化时胞内 K^+ 外流加快，平台期缩短，钙离子内流减少。窦房结 P 细胞 4 期钙离子内流减少和 I_f 通道介导的钠离子内流减少使 4 期去极化速度减慢，自律性降低，**心率减慢**。通过 G 蛋白-AC-cAMP-PKA 通路使胞内 cAMP 水平降低，心肌膜上钙通道开放概率降低，肌浆中 Ca^{2+} 浓度降低，心肌收缩减弱。慢反应细胞 0 期动作电位的上升幅度减少，上升速率减慢，房室传导速率减慢（**负性变传导**）。心肌细胞 L 型钙通道被抑制，钙离子内流减少可以引起**负性变力**。

三、小结

- 1、游离蛙心时，勿伤及静脉窦，要连静脉窦一起取下。
- 2、吸新鲜任氏液的滴管要与吸灌流管内液体的滴管分开，避免影响实验结果。
- 3、蛙心插管内液面要保持恒定，避免影响实验结果
- 4、换洗要充分，待心跳恢复正常频率和幅度后方能进行下一步实验
- 5、实验操作要迅速，本组在插管时耗时较长，以至于心肌缺血，无法观察到插管成功时明显的心室射血的情况，从而影响实验进度。
- 6、在游离心脏时要小心，避免划破血管、损伤心脏等情况，可能会影响实验结果。
- 7、如果滴加药品后现象不明显，可以适当加量，但是要注意有些药物可能要一段时间后才显示出效果，不可盲目、过多的添加药品。