DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.04.002

骨骼肌细胞膜电位在失血性休克时的变化及其与细胞功能障碍的关系

汪江淮 陆熙昶 刘光海 王成英 陆松敏 郭素清

（野战外科研究所 二室）

侯淦泉

（野战外科研究所 中心仪器室）

提 要 本实验建立应用“半浮置”式玻璃微电极在体测定SMCMP的实验方法，在家兔不可逆性失血性休克模型上系统观察了休克不同时相SMCMP的改变以及细胞内外离子和水的分布。低血压即刻SMCMP的显著下降提示细胞膜功能在休克早期就有改变；SMCMP随休克时间延长呈进行性下降的趋势反映了细胞膜和细胞功能障碍的不断加重。休克3小时，细胞内外离子和水发生跨膜再分布，细胞内K^+逸出，Na^+、水潴留，提示细胞容量调控能力丧失。

关键词 兔；失血性休克；微电极；细胞膜电位；离子和水分布；细胞膜功能

骨骼肌细胞膜电位（Skeletal Muscle Cellular Membrane Potential 以下简称SMCMP)是指存在于骨骼肌细胞膜两侧的电位差,SMCMP的正常与否是细胞膜结构和功能完整的标志之一。休克时细胞功能的早期损伤主要表现为细胞膜受损[1]，借助于微电极和电子学技术在体测定SMCMP可以直接反映和监测休克状态下细胞膜和细胞功能的改变，国外一些作者对休克时SMCMP的变化进行了观察，但各家报告不尽相同[2][3][4]。

本实验建立应用“半浮置”式玻璃微电极在体测定SMCMP的实验方法，在家兔不可逆性失血性休克模型上系统考察了休克不同时相SMCMP的改变，以及细胞内外离子和水的分布，以探讨休克时SMCMP的变化规律及其与细胞膜和细胞功能障碍的关系。

材料和方法

家兔25只，性别不拘，体重2.74±0.24kg，随机分为休克（n=14）和假手术（n=11）两组。3%戊巴比妥钠（30mg/kg）静脉全麻后，动物固定于兔台上，气管切开插管，自主呼吸；颈总动脉插管接储血瓶备放血用；左侧股动脉插管接血压计监测血压。切开右股前内侧皮肤约1.5cm，分离皮下组织及筋膜，暴露缝匠肌，小心剥离肌膜，避免出血，覆以蓖麻油保持湿润，待测定SMCMP。动物全身肝素化（625u/kg）后，经颈总动脉快速放血至储血瓶，5～7分钟内使血压下降到40mmHg，维持3小时后，回输全部失血，观察24小时内动物存活率。分别于放血前，低血压即刻，休克1、2、3小时测定SMCMP。于放血前和休克后3小时测定动脉血乳酸，血浆K^+、Na^+、Cl^-浓度。血乳酸按单一酶试剂微量比色法[5][6]，在国产72型光电分光光度计上测定λ=500nm处光密度；血浆K^+、Na^+、Cl^-分别按四苯硼钠比浊法、电导法和硝酸汞滴定法测定。于放血前和休克后3小时分别取两侧尺侧腕屈肌各4份，每份称重0.1～0.3g，测定肌内K^+、Na^+、Cl^-、水含量。肌肉K^+、Na^+的测定[7]，经浓HNO_3处理肌肉后，在FLAMOM数字式火焰光度计（匈牙利产品）上测定读数；肌肉Cl^-依改良的Sanderson[8]微量电位滴定法测定；肌肉含水量按烘干法[7]测定；并按Nernst方程推算放血前和休克后3小时细胞内外K^+、Na^+、Cl^-、水的分布[3]，细胞外水按血浆水0.94纠正，细胞外K^+、Na^+、Cl^-分别将血浆K^+、Na^+、Cl^-值按Donnan系数纠正(K^+ 0.99，Na^+ 0.99，Cl^- 1.01）。假手术组除不放血外，其他同休克组。

SMCMP的在体测定 用B-80型微电极拉制器将GG17自动充灌型玻璃微电极毛坯一次拉制成

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

微电极，内充2.0M KCl－0.5M KNO_3混合溶液。本实验拉制的电极尖端直径经X650P V9100扫描电镜（日本产品）测量，小于1μm（0.51～0.76μm）。SMCMP的测量电极为本实验自行设计的"半浮置"式玻璃微电极，参比电极为磷酸钾缓冲液（K^+=150mEq/L），与动物腹壁皮肤直接相接触。测量电极和参比电极分别接至VDF微电极放大器的高阻抗输入端和低阻抗输入端，于每次测定SMCMP之前，调整测量基线使与参比零线相重合，然后在MD-1型数控式微电极操纵器的控制下，测量电极进入缝匠肌细胞内，测得的SMCMP经连续放大后，在SBR－1双线示波器荧光屏上显示并照相记录。连续测定5个SMCMP，取其平均值。

差异的显著性按t检验和方差分析检验，所有原始数据输入APPLE Ⅱ型电子计算机程序作结果计算和统计处理。

结　果

一、不可逆性失血性休克模型的复制

本实验参照改良Wigger's法[9]造成动物低血压40mmHg维持3小时，血液自动回输时间为低血压后115分钟（80～150分钟）；休克3小时自动回输总血量占最大放血量的44.9%（27～52%）；回输全部剩余血后，24小时内动物死亡率为92.9%（13/14）；死亡时间为回输全部剩余血后5小时21分钟。

二、休克时SMCMP的变化

低血压即刻SMCMP从放血前－90.01±0.92mv（照片1）立即下降到－80.64±1.00mv（照片2），较放血前下降10.4%（$P<0.01$）。休克1、2、3小时SMCMP分别较放血前下降15.8%（$P<0.01$）（照片3）、22.1%（$P<0.01$）（照片4）、30.2%（$P<0.01$）（照片5）。休克时SMCMP随休克时间的延长呈进行性下降趋势（图1），各时相点的SMCMP之间均有非常显著差异（$P<0.01$）（表1）。假手术组的SMCMP在各相应时相无显著改变（$P>0.05$）。

表1　SMCMP（mv）的变化

	放血前	低血压即刻	休克1小时	休克2小时	休克3小时
休克组（n=14）	-90.01±0.92	-80.64±1.00 **	-75.79±1.80 ** ΔΔ	-70.10±1.38 ** ΔΔ	-62.83±1.16 ** ΔΔ
假手术组（n=11）	-89.73±1.16	-89.38±0.88	-88.96±1.33	-89.71±1.11	-89.24±0.59

系与放血前值相比。$P<0.05$，**$P<0.01$，未标出者$P>0.05$。

Δ系与邻近值相比。ΔP<0.05，ΔΔP<0.01，未标出者P>0.05。

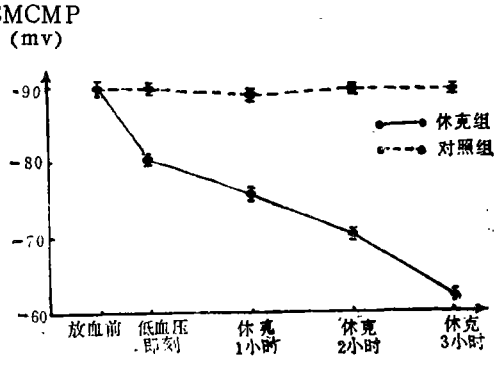


图1　SMCMP在休克时各时相中的变化

三、血乳酸，血浆K^+、Na^+、Cl^-和肌肉样本K^+、Na^+、Cl^-、水含量的变化

休克3小时血乳酸从放血前2.19±0.34上升到13.2±2.35mmol/L（$P<0.01$），血K^+从放血前3.46±0.43上升到5.81±0.98mEq/L（$P<0.01$），血Na^+、Cl^-无显著改变（$P>0.05$）。

休克3小时肌肉样本中K^+、Na^+、Cl^-、水含量与放血前值相比均无显著改变（$P\geq 0.05$）（表2）。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　休克时骨骼肌样本K^+、Na^+、Cl^-、H_2O的变化（n=14）

	K^+ (mEq/100gFFDW)	Na^+ (mEq/100gFFDW)	Cl^- (mEq/100gFFDW)	H_2O (L/100gFFDW)
放血前	38.13±2.16	9.46±1.18	5.63±0.55	0.320±0.014
休克 3 小时	38.13±1.63	9.09±1.43	5.71±0.50	0.316±0.012
t 值	0.432	1.200	0.390	0.269

* FFDW 为去脂肪组织干重

四、休克时细胞内外K^+、Na^+、Cl^-、水的重分布

休克 3 小时，细胞外K^+较放血前增加68.1%（$P<0.001$）；细胞内Na^+较放血前增加59.9%（$P<0.001$），Cl^-增加171.7%（$P<0.001$）（表 3、表 4）（图 2）。细胞内K^+，细胞外Na^+、Cl^-较放血前虽然有所减少，但均无显著差异（$P>0.05$）。

休克 3 小时，细胞外水较放血前减少38.1%（$P<0.001$），而细胞内水较放血前增加了6.54%（$P<0.01$）（表 3、表 4）（图 2）。假手术组在相应时相其细胞内外离子和水无显著改变（$P>0.05$）。

表 3　休克时细胞外K^+、Na^+、Cl^-、H_2O的变化（n = 14）

	K^+ (mEq/L)	Na^+ (mEq/L)	Cl^- (mEq/L)	H_2O (L/100gFFDW)
放血前	3.64±0.45	150.54±6.80	108.65±4.80	0.042±0.006
休克 3 小时	6.12±1.04***	150.45±5.36	106.83±6.58	0.026±0.006***
%	+68.13	−0.06	−1.68	−38.10
t 值	8.207	0.038	0.834	7.721

系与放血前值相比。$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$，未标出者$P>0.05$。

表 4　休克时细胞内K^+、Na^+、Cl^-、H_2O的变化（n = 14）

	K^+ (mEq/L)	Na^+ (mEq/L)	Cl^- (mEq/L)	H_2O (L/100gFFDW)
放血前	138.64±12.52	11.14±5.29	3.74±0.23	0.275±0.016
休克 3 小时	130.23±5.71	17.81±4.95**	10.16±0.52***	0.293±0.013**
%	−6.07	+59.87	+171.66	+6.54
t 值	1.861	4.022	38.192	3.527

系与放血前值相比。$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$，未标出者$P>0.05$。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

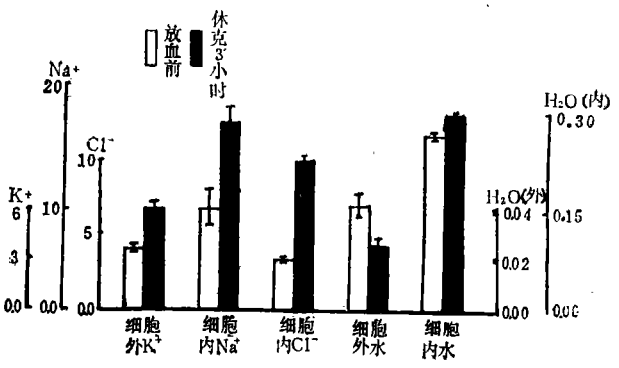


图2 休克时细胞内外K^+、Na^+、Cl^-、H_2O的再分布

讨 论

一、不可逆性失血性休克模型的复制

失血性休克模型按改良Wigger's法，一般以自动回输最大放血量的40%作为进入不可逆期的临界值[10]。血乳酸水平反映了组织无氧代谢的程度，文献报告各种休克50%活存率的血乳酸平均值为4.9mEq/L，若超过10mEq/L，几无存活希望[11]，因此血乳酸值可以用来估计休克的预后[12]。本实验维持低血压40mmHg 3小时，自动回输总血量占最大放血量的44.9%，血乳酸为13.2mmol/L，回输全部剩余血后，24小时内动物死亡率为92.9%，复制成不可逆性失血性休克模型。

二、休克时SMCMP的改变以及与细胞功能障碍的关系

细胞膜电位的稳定性可以反映细胞膜和细胞功能的稳定性。自从Campion等[2]首次在体测定和报告了出血性休克大白鼠和犬SMCMP的变化后，应用微电极技术在体测定细胞膜电位作为监测休克状态下细胞膜和细胞功能改变的手段，已经受到广泛重视。各文献结果均表明休克时SMCMP下降，但下降的时间和幅度各报告却很不一致[2][3]。为此，本实验在家兔不可逆性失血性休克模型的各个时相系统考察了SMCMP的变化。本实验结果表明，早在低血压即刻SMCMP就已出现显著下降，从放血前－90.4±0.92 mv降至－80.64±1.00mv（$P<0.01$），这一结果较之Arango等[4]报告的大白鼠低血压30分钟SMCMP从放血前-87.0mv降至－82.3mv要更早，提示细胞膜功能在休克早期就有改变。本实验结果还表明，休克时SMCMP并不象Campion等[2]报告的那样，短期内就下降到最低值，而是随着休克时间的延长呈进行性下降，这种下降趋势反映了休克时细胞膜和细胞功能障碍的不断加重和恶化。假手术组的SMCMP在各相应时间无显著改变提示麻醉、动物固定、以及手术创伤并不影响SMCMP。

生理状态下SMCMP的形成与细胞膜两侧离子的不均衡分布有关，休克时SMCMP的下降必然意味着这种不均衡分布的异常改变，各种离子发生跨膜再分布。为了从细胞水平探讨休克状态下细胞膜和细胞功能的受损情况，本实验在测得SMCMP的前提下，按照Nernst方程推算了休克前后细胞内外离子和水的分布，这种推算方法较之传统的Cl^-间隙法要更为直接、简便和可靠。本实验休克3小时肌肉样本中总的离子和水含量较放血前无显著改变，但细胞内外离子和水发生了跨膜再分布，细胞内K^+逸出，Na^+、Cl^-增加，细胞外水向细胞内迁移。上述改变与Trunkey等[13]观察到的休克时细胞内外K^+、Na^+、Cl^-和水的再分布结果相一致。休克时组织灌流严重不足，细胞乏氧，线粒体内氧化磷酸化的过程受抑，组织细胞由有氧氧化转为无氧酵解，ATP合成显著减少，而Na^+-K^+泵对细胞内外Na^+、K^+的主动转运需要水解细胞内的ATP来提供能量，因此，Na^+-K^+泵能量供应匮乏，跨膜主动转运Na^+、K^+的功能发生障碍；同时，休克状态下组织缺血所引起的乳酸水平升高以及组织酸中毒，代谢产物蓄积均可造成不同程度的细胞膜上离子通透蛋白对各种离子特别是

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Na^+的通透性增加[14]，从而使得细胞内外离子和水发生跨膜再分布，SMCMP降低。

休克时细胞内外离子和水的改变不仅反映了细胞膜和细胞功能的受损，同时也使休克进一步加重。细胞内K^+大量逸出使细胞间隙K^+和血K^+升高；细胞外Na^+进入细胞的同时将水带入细胞内；细胞内Na^+的蓄积使溶酶体酶对线粒体的氧化呼吸抑制作用大大增强[15]。细胞外水向细胞内转移，一方面使功能性细胞外液进一步减少，血液粘稠度增加，加重微循环障碍。另一方面更重要的是水份进入细胞导致细胞和线粒体肿胀，线粒体功能严重受损，细胞功能更趋恶化。文献报告出血性休克时细胞出现核染色体成团，内浆网膨胀以及细胞质明显肿胀等改变均与细胞内Na^+、水增加，K^+减少有关[1]。

由于SMCMP受细胞膜两侧离子分布浓度的影响，因此，休克时SMCMP的进行性下降可能提示了细胞内K^+逸出，Na^+、水潴留，以及细胞膜和细胞功能障碍的不断加重。

参考文献

1. Chaudry IH, et al: Alterations in cell function with ischemia and shock and their correction. Arch Surg 1981; 116:1309
2. Campion DS, et al: Effect of hemorrhagic shock on transmembrane potential. Surgery 1969; 66:1051
3. Shires GT, et al: Alterations in cellular membrane function during hemorrhagic shock in primate. Ann Surg 1972; 176:288
4. Arango A, et al: Role of ischemia in the induction of changes in cell membrane during hemorrhagic shock. J Surg Res 1976; 20:473
5. Macqueen J, et al: Colorimetric microdetermination of plasma lactate. Am J Med Tech 1979; 45:34
6. 潘瑾等：血浆乳酸单一酶试剂微量比色测定法。第三军医大学学报 1984; 6:289
7. Gibson WH, et al: Effect of endotoxin shock on skeletal muscle cell membrane potential. Surgery 1977; 81:571
8. Sanderson PH: Potentiometric determination of chloride in biological fluid. Biochem J 1952; 52:502
9. Lillehei RC, et al: The intestinal factor in irreversible hemorrhagic shock. Surgery 1957; 42: 1043
10. Gleen TM, et al: Protective effect of thoracic lymph diversion in hemorrhagic shock. Am J Physiol 1970; 219:1305
11. Vladimir V, et al: Blood lactate in the prognosis of various forms of shock. 1971; 173:308
12. Weil MH, et al: Experimental and clinical studies on lactate and pyruvate as indicators of the severity of acute circulatory failure(shock). Circulation 1970; 41:939
13. Trunkey DD, et al: The effect of hemorrhagic shock on intracellular muscle action potential in the primate. Surgery 1973; 74:241
14. Jennische E, et al: Correlation between tissue pH, cellular transmembrane potential and cellular energy metabolism during shock and during ischemia. Circ Shock 1978; 5: 251
15. Mittnacht S Jr, et al: Reversal of ischemia mitochondril dysfunction. J Biol Chem 1981; 256:3199

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Changes of Skeletal Muscle Cellular Membrane Potential during Hemorrhagic Shock & Its Relationship to Cellular Function Disturbance

Wang Jianghuai, Lu Xichang, Lie Guanghai, Wang Chengying, Lu Songmin,

Guo Suqing, Hou Ganquan

(Institute of Surgical Research, Third Military Medical College)

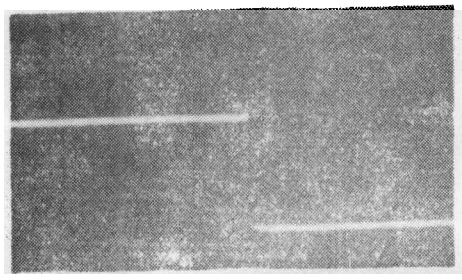
This paper is to report the determination of the skeletal muscle cellular membrane potential(SMCMP) in vivo with the technique of "Semi-floating"glass microelectrode. The changes of SMCMP and the distribution of extra- and intracellular electrolytes and water in different phases of irreversible hemorrhagic shock in rabbits were studied systematically.

It was found that SMCMP decreased significantly and immediately as soon as hypotension occurred, which means that the functions of the cellular membrane begin to deteriorate in the early stage of shock; SMCMP continued to decrease when the shock was progressing, which reflects that besides the failure of the cellular membrane function, there is also the degradation of the functions of the cell proper; the leakage of the intracellular potassium across the cellular membrane and the retention of the intracellular sodium and water occurred three hours after the onset of the shock, which indicates that the inability of cells to regulate their volume.

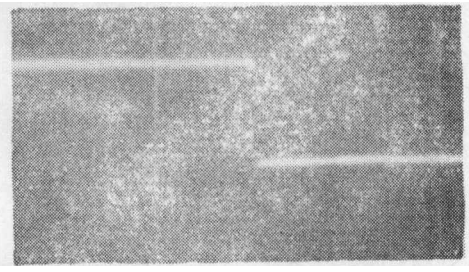
Key words: Rabbit; Hemorrhagic Shock; Microelectrode; Cellular Membrane Potential; Electrolytes and Water Distribution; Cellular Membrane Function

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

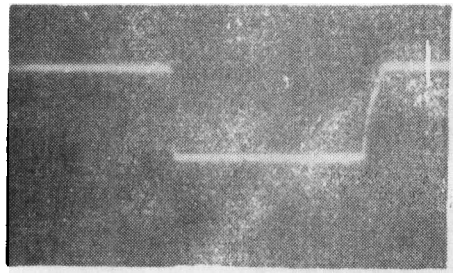
骨骼肌细胞膜电位在失血性休克时的变化及其与细胞功能障碍的关系（正文见第328页）



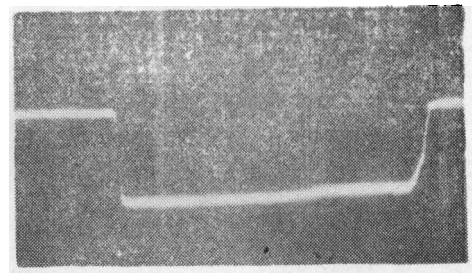
照片 1　放血前SMCMP



照片 2　低血压即刻SMCMP



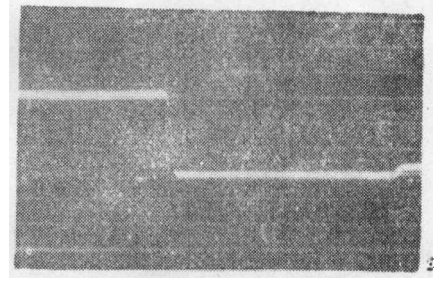
照片 3　休克后 1 小时SMCMP



照片 4　休克后 2 小时SMCMP

扩展型胸大肌肌皮瓣的外科解剖(正文见第345页)





照片 5　休克后 3 小时 SMCMP

照片　切除胸大肌后显示的胸肩峰动脉及其分支

1. 三角肌支　　3. 锁骨支
2. 胸肌支　　4. 胸肩峰皮支
⇦锁骨下缘中点　　←动脉吻合点

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net