DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.04.018

应用“半浮置”式玻璃微电极在体测定骨骼肌细胞膜电位(SMCMP)的方法

汪江淮 陆熙和 刘光海 王成英 陆松敏 郭素清 宋双明

(野战外科研究所 二室)

骨骼肌细胞膜电位(Skeletal Muscle Cellular Membrane Potential 简称SMCMP)是指存在于骨骼肌细胞膜两侧的电位差。自从Campion等[1]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。我们在实验中自行设计了“半浮置”式玻璃微电极，在家兔失血性休克的各个时相系统地考查了SMCMP的变化，现将结果和方法介绍如下。

方 法

一、动物准备

雄性家兔12只，体重2.1～2.7kg，戊巴比妥钠(30mg/kg)静脉全麻后，仰卧位固定于兔台上。气管切开置管，颈总动脉、左侧股动脉插管。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造成低血压40mmHg维持3小时。

二、玻璃微电极的制作

采用GG17(1.4×100mm)自动充灌型玻璃微电极毛坯，经B－80型微电极拉制器将上述毛坯一次拉制成微电极(加热电流控制在5.2～5.8A)，管腔内充以2.0M KCl－0.5M KNO_3混合溶液。拉制的微电极尖端直径经X650能谱PV9100扫描电子显微镜(日本)测量，一般均小于1μm(0.76μm)，最细为0.51μm(照片1—4)。于测定SMCMP之前，在英制1503型数字式万用电表上测定每一根电极的尖端阻抗，大于10MΩ以上者才用以测定SMCMP。

三、SMCMP的在体测定

SMCMP的测定装置由测量电极、参比电极、放大系统和显示、记录系统组成。测量电极为我们自行设计的“半浮置”式玻璃微电极，即在电极管腔内嵌入一预先绕制成螺旋形的铂丝，这样就使测量电极既可固定推进，又具有浮置功能。铂丝的另一端接VDF微电极放大器的高阻抗输入端。参比电极为与动物腹壁皮肤直接相接触的磷酸钾缓冲液(K^+=150mEq/L)，经222型甘汞电极接VDF微电极放大器的低阻抗输入端。测定SMCMP前调整VDF微电极放大器的平衡点和方波响应性至最佳状态，然后使测量电极与参比电极接触，调整测量基线使与参比零线相重合。测定SMCMP时，在MD－1型数控式微电极操纵器的控制下，“半浮置”式玻璃微电极进入家兔缝匠肌细胞内，测得的SMCMP经VDF微电极放大器放大，输入SBR－1型双线示波器进一步放大后，在荧光屏上显示，并经SB－408示波器照相机照相记录。连续测定5个SMCMP，取其平均值。

结果和讨论

应用“半浮置”式玻璃微电极技术，分别于放血前，低血压即刻，休克1、2、3小时测定SMCMP，结果见附表。实验结果表明，休克时SMCMP下降，并有随休克时程的延长呈进行性下降的趋势。

在体测定SMCMP的主要技术难点是电极尖端直径的大小达不到要求，一般认为，测定细胞膜电位的电极尖端直径与细胞直径比应小于1∶20[2]，测定SMCMP时尖端直

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

表 休克时 SMCMP（mv）的变化（n＝12）

	放血前	低血压即刻	休克1小时	休克2小时	休克3小时
SMCMP (M±SD)	－88.88±1.84	－80.28±2.13**	－74.33±2.29***	－70.08±1.77***	－64.55±1.30***

*系与放血前值相比。**P＜0.01，***P＜0.001

径应小于1μm，这样才不致于损伤细胞膜[3]。我们在实验过程中体会到，电极尖端直径过粗可能会造成人为的细胞膜损伤，从而影响测定的SMCMP的可靠性。但更常见的是，当电极尖端直径过粗（例如有折断时），往往导致测定部位组织的压陷，这可能是由于“半浮置”式玻璃微电极的弹性缓冲力所致。本实验中拉制的玻璃微电极尖端直径一般均小于1μm（0.51～0.76μm）。

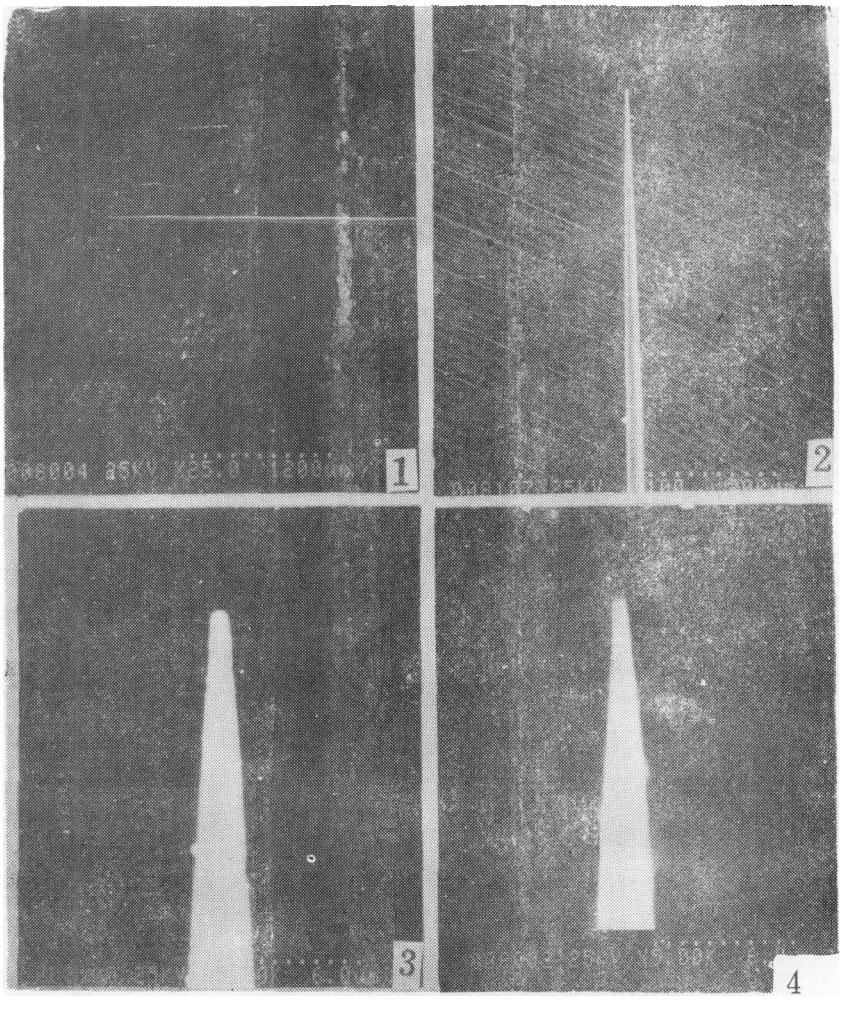
此外，由于测定电极尖端极细，因此在测定过程中各种原因造成的动物台震动，以及测定部位肌肉组织的收缩和震颤，都易引起电极尖端的折断，增加了测定SMCMP的困难，甚至无法测定。本实验自行设计的“半浮置”式玻璃微电极利用螺旋形铂丝的弹性缓冲力较好地解决了这一问题。

参考文献

1. Campion DS, et al: Effect of hemorrhagic shock on transmembrane potential. Surgery 1969; 66:1051～9
2. Hodgkin AL, et al: Action potential recorded from inside a nerve fiber. Nature (London) 1939; 140:710～6
3. Cunningham JN, et al: Cellular transport defects in hemorrhagic shock. Surgery 1971; 70:215～22

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

应用“半浮置”式璃璃微电极在体测定骨骼肌细胞膜电位(SMCMP)的方法(正文见第394页)



照片：

1.电极尖端放大25×；
2.电极尖端放大100×；
3.放大5000×　电极尖端直径0.76μm；
4.放大5000×　电极尖端直径0.51μm

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