DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.02.030

求大大高于正常人，增高的幅度基本与烧伤面积成正比。此外，烧伤后机体对糖耐受性减低，而脂肪的利用率则相对增加。鉴于以上特点，对于较大面积烧伤病员来说，仅依赖病员对热卡的自然摄入。无论从数量和/或质量上均很难满足需要。我们认为对烧伤病员，尤其是较大面积的烧伤，应积极给予热卡的补充、且应注意做到以下几点：（1）保护胃肠道功能，使之始终成为热卡摄入的主要途径；（2）调动医务人员和病员二方面的积极性，争取做到满足伤后早期的热卡补充；（3）在满足热卡需要量的同时，注意营养素的合理搭配，对较大面积烧伤病员，伤后早期可适当提高脂肪的摄入，而对糖的摄入应稍加限制。

关键词：烧伤；热卡

参考文献

1. Pasulka PS, Wachtel TL. Nutritional considerations for the burned patient. Surg Clin North Am 1987; 67 (1):109
2. 第三军医大学烧伤研究协作组。烧伤治疗学——消化系统的并发症。北京：人民卫生出版社 1977:202
3. Bell SJ, Wyatt J. Nutritional guidelines for burned patients. J Am Diet Assoc 1986;86 (5):648
4. 何志谦。人类营养学——能量的需要与供给。北京：人民卫生出版社，1988:37

（收稿：1991-07-12；修回：1991-11-15）

大鼠脊髓重锤致伤后神经微丝变化的初步研究

杨青峰 廖维宏（第三军医大学 野战外科研究所） 630042

神经微丝(Neurofilament, NF)为神经细胞的中间丝成份，由分子量为68KD、150KD、200KD的3个亚基构成，直径8～10nm，界于微丝和微管之间，存在于神经细胞的胞体和突起，为细胞骨架成份之一，与微丝、微管一起构成神经细胞的骨架系统，参与完成细胞形态、轴突运输等过程[1]。本研究利用自制的NF_{200}特异性单克隆抗体，借助于免疫组化方法，对Wistar大鼠脊髓损伤后NF的变化进行了动态研究，从分子水平上探讨脊髓损伤后细胞骨架的变化情况，为脊髓损伤的病理生物学积累资料[2]。

1 材料和方法

雄性Wistar大鼠50只，体重150～200g，随机分成10组，每组5只，0.2%戊巴比妥钠腹腔麻醉，重锤打击(100gcm)致伤L_1脊髓，制备Allen's脊髓损伤模型。分别于伤前（正常对照）、伤后1/4、1/2、1、2、4、6、8、12、24h用4%多聚甲醛经心主动脉插管灌注固定，2h后取材（伤段及上、下段）用同样溶液后固定。

经多聚甲醛固定、石蜡包埋的组织，再用自制的NF_{200}特异性单克隆抗体，行免疫组化染色(ABC-AEC法)，ABC试剂盒为卫生部上海生物制品所产品，AEC显色剂为重庆医科大学病生教研室提供。同时设立阳性对照与阴性对照。

2 结果与讨论

本研究利用NF_{200}特异性单抗，借助于免疫组化方法，对脊髓损伤后24h NF的变化进行了动态研究。免疫组化发现，正常脊髓灰白质中轴突纤维染色明显，而无神经元胞体的染色（图1）；损伤后15min，轴突染色与正常相似，但个别组织（1/5）出现了正常没有的神经元胞体的染色。30min以后，随着时间的延长，NF_{200}单抗染色的轴突逐渐减少、变浅（图2、图3），到损伤6h以后，几乎不见轴突的染色。神经元胞体的染色，在2h后有所增加，6h以后更加明显，尽管神经元发生了溶解变性与凝固变性，直到12～24h，残存的神经元仍可见胞浆的明显染色（图4）。邻近节段的改变

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

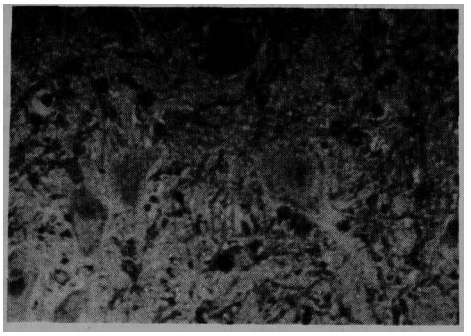


图1　正常脊髓前角灰质
可见纵横交错的神经纤维染色、无神经元胞体的染色。ABC×400

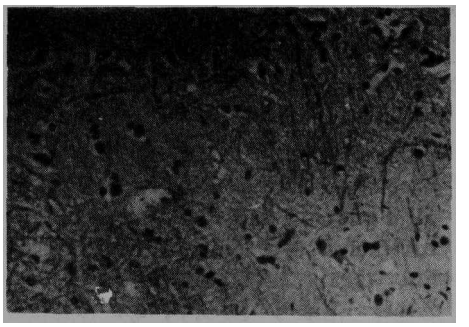


图2　损伤后1h脊髓灰质
仍见较多神经纤维染色，可见皱缩神经元胞浆的明显染色。ABC×200

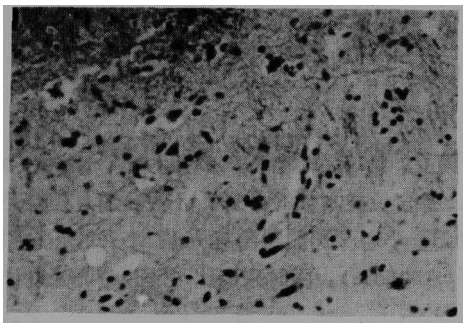


图3　损伤后4h脊髓灰质
神经元胞体染色增加，偶见纤维成份的染色、可见出血。ABC×200

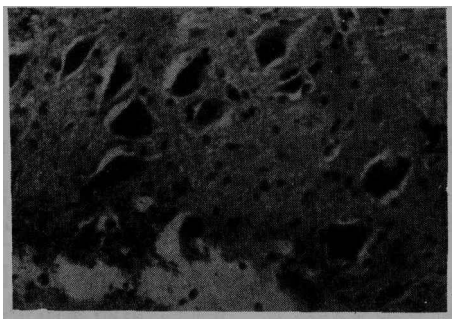


图4　损伤后12h脊髓前角灰质
可见组织完整性破坏，变性坏死神经元胞体强烈染色，无纤维成份染色。ABC×400

与伤段相似，部份病变较轻。

脊髓损伤后NF_{200}特异性抗体染色的改变，可能与其生化代谢相关联[3]。有作者认为，在正常情况下，由于胞体不含NF_{200}或所含NF_{200}与轴突有所不同，轴突NF_{200}特异性抗体只对轴突染色，而无神经元胞体的染色[4]。损伤初期，分解代谢不明显，轴突染色与正常相似；同时，可能由于创伤直接或间接诱发胞体NF_{200}的磷酸化，从而消除了胞体与轴突NF_{200}之间的不同，导致了正常没有的神经元胞体的染色[5]。随着时间的延长，局部微循环障碍加剧，Ca^{2+}代谢紊乱，细胞内Ca^{2+}含量的增加，中性蛋白酶(Ca^{2+}-activated neutral proteinase，CANP)的激活，细胞骨架分解增加，致使NF_{200}特异性抗体于灰白质中纤维成份的染色逐渐变浅[3]。2h后出现的神经元胞体染色的明显增加，一方面可能由于胞体NF_{200}的磷酸化；另一方面，可能与创伤后微循环障碍所致神经元变性坏死引起的非特异性吸附有关。

NF作为神经细胞骨架成份之一，它的变化在一定程度上反映了整个细胞骨架成份的变化。通过对脊髓损伤后细胞骨架变化的研究，进一步把握脊髓损伤的发生发展进程，为临床防治研究提供理论指导，因而具有十分重要的意义。有关方面的研究才刚刚开始，有待于进一步的深入。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

（本研究得到了已故刘英炳教授指导，特此致谢！）

关键词 NF_{200}特异性单抗；免疫组化试验；脊髓损伤

参 考 文 献

1. Lasek RJ, Phillips L, Katz MJ, et al. Function and evolution of neurofilament proteins. Ann NY Acad Sci 1985;455:462
2. 杨青峰 范维珂 段积华，等。神经微丝的纯化及其单克隆抗体的制备与鉴定。免疫学杂志 1990;6（2）：92
3. Banik NL, Hogan EL, Hsu CY. Molecular and anatomical correlates of spinal cord injury. CNS Trauma 1985;2（2）：99
4. Hirokawa N, Glicksman MA, Willard MB. Organization of mammalian neurofilament polypeptides within the neuronal cytoskeleton. J Cell Biol 1984;98:1523
5. 田口润智，山田和雄，早川徹，他.局所脳虚血後の軸索伤害とその再生について，脳梗塞亚急性期ないし慢性期にすけ神经变性伤害の発生機序に关连して。脳と神经 1989;41（8）:813

（收稿：1991-07-22；修回：1992-01-30）

微量滴定板蛋白质计量测定

李正东 （第三军医大学训练部 寄生虫学教研室） 630038
周成贵 （第三军医大学训练部 中心实验室） 630038

考马斯蓝（Comassie Blue）染料蛋白测定，因其简便、快速、灵敏度高、重复性好、干扰因素少[1-3]，越来越多地为实验室采用。但使用比色皿-分光光度计，只能同时测定2～3个样本。我们采用微量滴定板（microtitre plate）-酶标光度计，方法更为简便，尤其适用于小样本（5～100μl）的批量测定。

1 材 料 和 方 法

试剂、仪器：考马斯亮蓝G-250（Fluka）、牛血清白蛋白结晶（上海长阳制药厂），55孔平底聚苯乙烯微量滴定板（四川分析仪器厂），GXM-202酶标光度计（四川仪表九厂），岛津UV-365光度计。其它试剂均为分析纯。

标准蛋白：用重蒸馏水配制BSA溶液，紫外分光光度法（$E_{280nm}^{1\%}=6.6$）确定其含量。

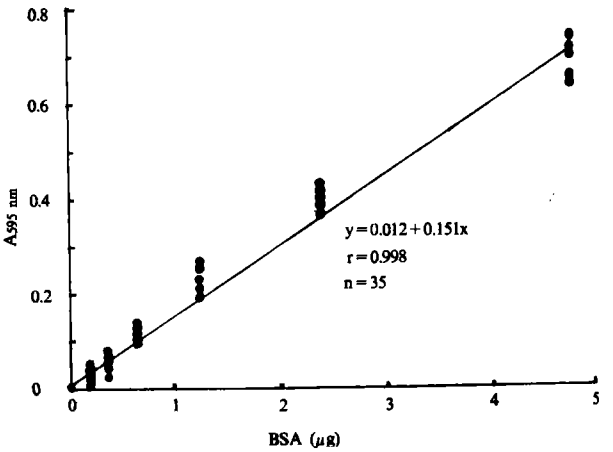
染料贮存液：考马斯蓝G-250 1g溶于200ml 88%磷酸，加100ml 95%乙醇，室温下存放。

染料工作液：染料贮存液/88%乙酸/95%乙醇/重蒸馏水（3/8/4/45）按体积比混匀，滤纸过滤后备用。

测定方法：滴定板孔井用重蒸馏水洗涤一次后吹干，加入倍比稀释的BSA标准蛋白溶液（BSA含量为0，0.15，0.3，0.6，1.2，2.4，4.8ng/100μl），各含量样本测5个复孔，各孔加入染料工作液150μl，小心振荡后置酶标光度计下测定各孔吸光值（A595nm）。同时采用比色皿-分光光度计法测定[1]。

2 结 果 和 讨 论

标准曲线：BSA含量（x）和相应A595 nm（y）绘制标准曲线，直线回归方程$y=0.012+0.151x$，相关系数$r=0.998$。（附图）



附图 牛血清白蛋白标准曲线

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net