DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.02.009

(3). 由于根内桩钉相互不平行，所以铸冠不易脱落，固位力强。

(4). 1次整体铸造即可完成桩冠的制作，操作简便，戴牙容易，而且密合度亦良好。

三. 制作时的注意事项

(1). 用1.8mm不锈钢丝磨制桩钉时，需放置桩钉的每个牙根要磨制两根相似的桩钉，一根在做蜡型及灌注金属时用，一根在戴牙时用。

(2). 桩钉的根段要磨制成圆台状[2]，这样能有效地预防根折。而桩钉超出根面的部分却不能砂磨，以便于铸型完成后顺利地拔除桩钉，在金属冠中留下光滑均匀的轴孔。

参 考 文 献

1. 高木 明夫，等. 新しいデザインの既制ポスト"テーパー・ロンク"・ポスド造用いたメタル・エア作制法. 补缀临床 1987; 20(5): 585～594
2. 花村 典之，等. 支台筑造の力学. 补缀临床 1984; 17(1): 1～11

(收稿: 1988.10.18; 修回: 1989.1.15)

红细胞超氧化物岐化酶的测定

冯华芳 高丽清 (西南医院 中心实验室)
陶 溶 (新桥医院 中心实验室)

超氧化物岐化酶(E·C 1.15.1.1 简称SOD)是一类存在于细胞内的金属酶，可以催化超氧自由基(O_2^-)发生岐化反应。酶活力的测定目前大多采用间接测定法。如发光法[1]、还原法[2][3]、自氧化法[4][5]、NADH氧化法[6]等。我们参照 Winterbourn 等人[2]介绍的方法，建立了红细胞 SOD 测定法，并已应用于临床(有关资料将另文报道)。另外，在撰稿过程中已见本法用于心肌缺血时组织 SOD 活性测定的报道[7]。现将方法介绍如下:

试 剂

1. SOD标准物 猪红细胞制品，由苏州医学院提供。

2. 氯化硝基四氮唑兰(NBT) 1.5 mmo/L，贮冰箱。

3. EDTA·Na_2 0.1 mol/L，每 100 ml 含 1.5 mg NaCN。

4. 核黄素 0.12 mmol/L，贮棕色瓶置冰箱。

5. PBS 0.067 mol/L，pH 7.8。

6. 冷生理盐水、冷双蒸馏水、无水乙醇(A·R)、氯仿(A·R)。

方 法

1. 原理 核黄素、氧，经光解产生 O_2^-，O_2^-还原NBT呈紫色化合物。SOD有清除 O_2^-的作用，从而抑制紫色化合物的生成。故显色的深浅与酶活力成反比。

2. 步骤

(1) 红细胞 SOD 抽提液的制备：取受检者肝素抗凝血 2 ml，离心除去血浆及白细胞层，红细胞层以2～3倍体积冷生理盐水洗涤三次，前2次3000转/min 离心5min，最后1次离心 10 min，除去上清液，压积血球中加冷双蒸水约3倍体积，摇动使溶血，测其 Hb，并调节至5 g/dl，取该溶血液0.5

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

ml，加1.5 ml冷蒸馏水，振摇使其充分溶血，加冷无水乙醇0.5 ml，冷氯仿0.3 ml，于快速混合器上混合约1 min，稍置，3000转/min离心10 min。上层水－乙醇混合液即为红细胞SOD抽提液。

(2)酶活力测定：见表1

表1 酶活力测定加样顺序表

管号	对照(三管)	1	2	3	4	5	6
抽提液(μl)	—	10	20	40	60	80	500
EDTA-NaCN(ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
NBT (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
PBS	将各管补足至3 ml，充分混合，置30 ℃ 水浴5 min						
核黄素(μl)	75	75	75	75	75	75	75

快速充分混合，立即置箱*内密闭光照15 min取出，于分光光度计上以水调零560 nm比色。

(*光照箱内平行安装两只20W荧光灯，间距10～15 cm，箱内四周上下均为白色，闭密不透光。)

(3)酶单位表示及活力计算：一个单位的酶活力是指在特定条件下对NBT还原产生最大抑制的1/2所对应的抽提液量中所含的酶量。抑制百分率即与不加SOD提取液(三管对照之平均吸光度)相比较而得。求出各抽提液的抑制百分率，绘成曲线(见图1)，查出最大抑制1/2时对应的抽提液量，按下式算出SOD活力。

$$\frac{100000}{V(\mu l)} = \text{SOD U/g Hb}$$

V：最大抑制1/2时的μl数

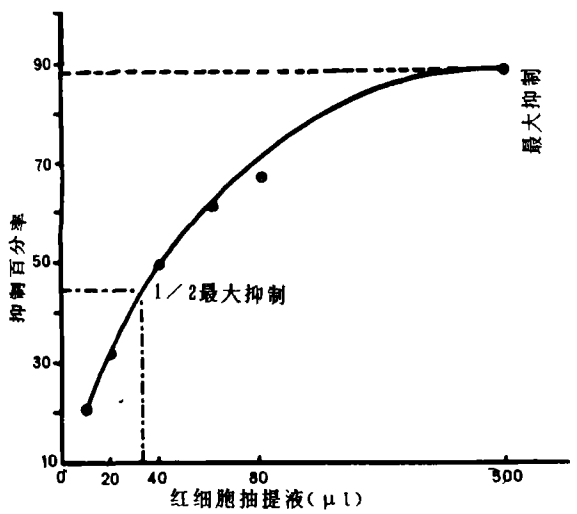


图1 酶活力曲线

结果与讨论

1. 稳定性 O_2^-还原NBT所生成的紫色化合物随着时间的延伸其吸光度稍有下降。但只要在每个样品比色时同时作对照管比色，再计算抑制率，则对结果无影响。

2. 精密度 用混合红细胞提取液重复测定10次，批内C·V为6.5%；10天内重复测定，批间C·V为12.6%。

3. 灵敏度 用系列酶标准液作出反应抑制曲线，最大抑制的1/2为83 ng，每mg蛋白为12048 U。

4. 正常参考值 测定67名献血员红细胞SOD活性。中位数3030，范围3107±447(均值±标准差) U/g Hb。频率分布见图2。

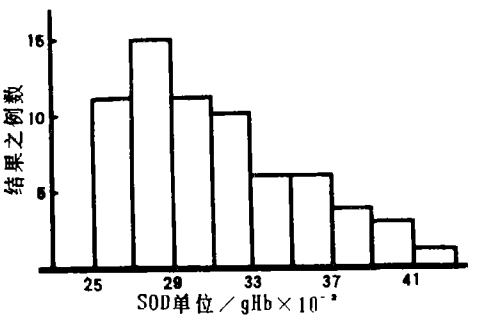


图2 67名献血员红细胞SOD频率分布

建议各实验室作出自己的正常值。

5. 核黄素的量、光照强度、NBT浓度对实验影响较大，故每次测定力求一致。我们作了加核黄素50、75、100 μl的实验，观察到核黄素愈少显示酶活力愈高，反之则愈低。另外，光照强度应尽可能均匀一致，亦是实验稳定的最重要因素之一。

6. 由于酶活性是以每克Hb所含单位表示，故低色素贫血患者可能出现SOD活性偏高，应予注意。

7. 清晰透明的红细胞抽提液往往不是

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

一次成功，此时可将1 g Hb/dl溶血液放冰箱数小时再加氯仿进行抽提即可得清晰透明之提取液。

参 考 文 献

1. 李益新，等。超氧化物岐化酶活力测定的新方法－化学发光法。生物化学与生物物理学进展 1983; 2: 59
2. Winterbourn CC, et al. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med 1975; 85: 337
3. Hyland K, et al. Superoxide dismutase assay using alkaline dimethylsulfoxide as superoxide anion-generating system. Anal Biochem 1983; 135: 280
4. Markiund S, et al. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 1974; 47: 469
5. Misra HP, et al. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. J Biol Chem 1972; 247: 3170
6. Paoletti F, et al. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts. Anal Biochem 1986; 154: 536
7. 沈乃、李元建。四种方法测定心、肝、肾、血中超氧化物岐化酶比较及心肌缺血时的变化。中华医学检验杂志 1988; 6: 325

（收稿：1989. 1. 19；修回：1989. 3. 3）

论 文 摘 要

磷烧伤后肾功能障碍病理学基础的实验研究

谭怡然 导师 晏良遂教授 （病理解剖教研室）

急性肾功能衰竭是磷烧伤患者的主要死亡原因之一，其发生机制迄今尚未阐明。本研究采用光、电镜观察和立体计量、放射性生物微球、免疫组化、放射自显影、单免扩散、放免分析、墨汁－明胶灌注、体外组织培养等多种方法，系统地研究了大鼠磷烧伤后肾脏，尤其是肾小球形态、功能和血流的病理变化，病变特点、病变间相互关系；研究了肾小球内纤维连接蛋白（Fibronectin，Fn）的分布、来源及其在磷烧伤后含量与分布的改变，输入外源性血浆Fn对肾小球形态与功能的影响，以及Fn抗体对体外培养的肾组织内肾小球细胞的作用。结果表明，半数以上的动物在伤后72 h出现明显的肾功能障碍；肾小球病变明显，主要特征为内皮细胞肥大，胞浆形成突起横跨管腔，胞体脱离系膜区嵌于毛细血管腔中；系膜细胞增生，胞突向毛细血管腔内伸展等。在伤后72 h，内皮细胞和系膜区体密度分别增加至对照组的163%和191%，从而导致毛细血管腔狭窄与阻塞。肾功能障碍现象随肾小球病变的加重而出现，并随病变的减轻而消失，表明肾小球病变程度与肾功能障碍的发生有着极为密切的关系。伤后大鼠血浆Fn浓度进行性地下降，伤后72 h降至90 μg/ml，肾小球内Fn含量亦显著减少，尤以系膜基质为著。输入外源性血浆Fn可使肾小球病变减轻、肾功能障碍亦减轻。体外组织培养结果表明，Fn抗体能够促进系膜细胞生长及其胞突的伸展。

综合上述研究结果，作者认为，肾小球病变对磷烧伤后肾功能障碍的发生具有重要的作用；纤维连接蛋白的减少是导致肾小球细胞病变的因素之一；适时输注血浆Fn，有可能成为提高伤后急性肾衰防治水平的一个重要途径。

文中并就肾小球内可能存在毛细血管直捷通路、磷烧伤后Fn减少的原因、Fn与肾素－血管紧张系统间的关系等问题进行了讨论。

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