

人红细胞脂质过氧化物及超氧化物歧化酶的研究

董 伟 李新建 陶国枢 张 玲

(中国人民解放军总医院酶学室)

近年来越来越多的研究表明, 自由基参与许多生理及病理过程^[1]。自由基诱导的某些生化反应在生物衰老的发生、发展过程中起着重要作用^[2]。因此, 为了探讨人类衰老的机理, 寻找评价衰老的生化指标, 我们测定了不同年龄组人红细胞的脂质过氧化值及超氧阴离子自由基清扫剂——超氧化物歧化酶 (SOD) 的含量。

材 料 和 方 法

检查对象 三组健康人, 青年组 (18—35 岁) 55 人, 老年前期组 (50—59 岁) 30 人, 长寿老年组 (90—96 岁) 37 人。

测定方法 上午取受试者静脉血, 离心去血浆, 红细胞用生理盐水-50 mM Tris 缓冲液 (pH 7.4) 洗三次, 得压积红细胞。

脂质过氧化物测定 参考 Uchlyma 的方法^[3]加以修改。取压积红细胞 0.5 ml, 用双蒸水 1:1 稀释, 向此 1ml 溶血液中加入乙醇-氯仿 (5:3v/v) 混合液 0.42 ml, 冰浴提取 1 分钟。然后再加入 0.16 ml 双蒸水, 3000 rpm 离心 5 分钟。取出上清液 0.5 ml, 加入 20% 醋酸 1.2 ml, 1% 硫代巴比妥酸 1.3 ml, 95℃ 水浴 1 小时, 再用 3ml 正丁醇抽提振荡 1 分钟。3000 rpm 离心 10 分钟。在 532nm 波长处测定抽提液光密度。用 1,1,3,3-四乙基丙烷 (TEP) 作为标准, 结果以每克血红蛋白 (用碳酸钠法测定) 所含丙二醛毫微克分子数表示。

SOD 含量测定 参考 Misra 的方法^[4], 略加修改。取上述样品液 0.025 ml, 加 6×10^{-4} M 联大茴香胺 1ml, 3.9×10^{-3} M 核黄素 1.0 ml, 混合液用 40 瓦日光灯照 8 分钟, 距离 3cm, 在

460 nm 波长测定光密度。TEP 标准处理方法同样品, 结果以每克血红蛋白所含 SOD 微克数表示。

实 验 结 果

一、红细胞脂质过氧化物含量

结果见表 1。老年前期组高于青年组, 而长寿老人组又明显高于老年前期组。

表 1 各年龄组红细胞脂质过氧化物含量

分组	例数	平均年龄 (岁)	LPO (nm/gHb)	与青年组比较	
				t	P
青年组	37	26.23±0.86 (18—33)	2.61±0.16	—	—
老年前期组	30	53.07±0.41 (50—59)	3.09±0.19	1.9199	<0.1
长寿老年组	37	91.81±0.29 (90—96)	3.59±0.23	2.9461	<0.01

注: 长寿老年组与老年前期组相比 $P < 0.05$

表 2 各年龄组红细胞超氧化物歧化酶含量

分组	例数	平均年龄 (岁)	SOD (μg/gHb)	与青年组比较	
				t	P
青年组	55	25.05±0.69 (18—35)	465.80±11.72	—	—
老年前期组	29	53.24±0.40 (50—59)	460.24±10.89	0.3087	<0.8
长寿老人组	37	91.81±0.29 (90—96)	391.17±29.15	2.7192	<0.01

注: 长寿老人组与老年前期组相比, $P < 0.05$

二、红细胞 SOD 含量

结果见表 2。老年前期组 SOD 值略低于青年组, 长寿老人组 SOD 含量明显低于青年组 ($P < 0.01$) 及老年前期组 ($P < 0.05$)。

讨 论

体内常见的自由基有超氧离子自由基(O_2^-),羟基自由基($HO\cdot$),氢过氧自由基($HO_2\cdot$)等,主要是机体正常或异常的生化反应的产物,它们在体内非常活泼,参与一系列的链锁反应,生成新的自由基,对机体产生毒害作用。

自由基对生物体系损伤的重要方面是产生脂质过氧化物^[2],其中最重要的是丙二醛,它能交联蛋白质、脂类、核酸及糖类,使生物膜变性,致使组织破坏和老化。当机体处于正常生理状态时,自由基不断产生,也不断被清除。但老年人体内的各种抗氧化剂减少,因而对自由基及过氧化物的清除能力也减弱,脂类过氧化物的含量因之增高。有学者报道^[9],氧化是导致衰老的主要原因,体内自由基及脂质过氧化物随年龄的增长而升高^[6,7]。本文资料,红细胞脂质过氧化物值随年龄增加而升高,与文献报道一致。

SOD的功能是催化超氧离子自由基(O_2^-)的歧化反应,清除自由基,从而阻止自由基的链锁反应,对机体起保护作用^[8],所以有些学者把SOD做为研究衰老的指标之一。

SOD与衰老的关系研究多数以动物为材料。Massie^[9],发现C₅₇BL/6J鼠脑中SOD活力随增龄降低32—36%。Carrell^[10]比较了青龄和老龄鼠肝中SOD活力,后者比前者活力降低50%。人SOD与衰老的关系研究较少,为取材方便,又大都测定红细胞SOD的含量。最近王赞舜报道^[11],149例正常人中40—49岁组比20—39岁组红细胞SOD值明显下降,此后这一水平维持至79岁。Micheleson报道^[12]

200例,正常人红细胞SOD值,年龄组小于60岁时各年龄组无明显差别(平均值 $461.4 \pm 45.8 \mu\text{g/gHb}$),而7例60—69岁老人SOD($419.6 \pm 26.7 \mu\text{g/gHb}$)明显低于青壮年组($463.3 \pm 51.6 \mu\text{g/gHb}$)。本文结果指出,老年前期组红细胞SOD值虽低于青年组,但差异不显著,而长寿老人组SOD值明显低于青年组($P < 0.01$)和老年前期组($P < 0.05$)。上述结果表明,人红细胞SOD值可能从老年前期开始降低,此后随着年龄的增长缓慢下降。

青年组红细胞SOD值较高,脂质过氧化物值较低,而长寿老年组则与此相反,这可能是因年龄增长,清除自由基的酶系统的机能逐渐减弱,于是自由基引起的毒性物质不断积累,从而导致人体日趋衰老。

参 考 文 献

- [1] 刘吉生等:《国外医学老年医学分册》,4: 147, 1984。
- [2] Leibovitz, B. E. et al.: *J. Gerontology*, 35(1), 1980。
- [3] Uchlyma, M. et al.: *Anal. Biochem.*, 86, 271, 1978。
- [4] Misra, H. P. et al.: *Arch. Biochem. and Biophys.*, 181, 308, 1977。
- [5] Roy, D. et al.: *J. Neurochem.*, 42, 628, 1984。
- [6] 佐佐木等:《最新医学》,33(5), 863, 1978。
- [7] 五島雄一郎,他,他:《脑と神経》,33(1), 25, 1981。
- [8] 李文杰:《生命的化学》,2(5), 49, 1982。
- [9] Massie, H. et al.: *Mechanisms of ageing and development*, 10, 93, 1979。
- [10] Carrell, R. W. et al.: *Brit. J. Haematol.*, 30, 259, 1975。
- [11] 王赞舜等:《中华老年医学杂志》,4(4), 193, 1985。
- [12] Micheleson, A. M. et al.: *Superoxide and Superoxide Dismutase*, Academic Press, London, 467—499, 1977。

[本文于1986年3月17日收到]