

白血病患者红细胞超氧化物歧化酶活性、血清过氧化脂质、维生素 E 的检测与分析

顾凤英 季健平 童正本 何岳文

摘要 本文观察了 44 例白血病患者红细胞中铜、锌超氧化物歧化酶(RBC·CuZn-SOD)的活性、血清过氧化脂质(LPO)和维生素 E(VE)的水平,结果表明 RBC·CuZn-SOD 活性和 LPO 水平在白血病患者中显著增高(P 值均小于 0.01),而 VE 水平则明显降低($P < 0.01$)。对其中 15 例急性白血病(AL)患者进行动态观察,在治疗获完全缓解后,其三者水平恢复到基本正常。反应了白血病患者体内存在着自由基产生和清除的平衡遭到破坏,而治疗缓解后这种失衡状态可望得到部分恢复。

关键词 白血病; 超氧化物歧化酶; 过氧化脂质; 维生素 E

自从自由基与癌症的关系提出以后,SOD、 O_2^- 、LPO、VE 在肿瘤患者中的变化日益引起人们的兴趣,曾有人将测定微量指血 SOD 的活性用于老年医学和肿瘤的研究^[1,2],但在国内尚未见到有关白血病与 RBC·CuZn-SOD 活性、血清 LPO、VE 水平的研究报道。为此作者着重探讨这三者在白血病患者中的水平、缓解前后的活性变化及其临床意义。

1 材料和方法

1.1 观察对象 各型白血病患者 44 例,均经骨髓细胞形态学检查,组织化学染色确诊的初治或复发者,男 30 例,女 14 例。其中急性非淋巴细胞白血病(ANLL)26 例;急性淋巴细胞白血病(ALL)8 例;慢性粒细胞白血病(CML)10 例,年龄范围 25~70 岁,平均 43 岁,对照组为 26 例健康查体者,男 15 名,女 11 名,年龄范围 22~49 岁,平均 38 岁。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 RBC·CuZn-SOD 活力测定 采用邻苯三酚自氧化法^[1],试剂由德国 E·MERCK 公司提供,采用美国 PEKIN-ELMER 公司的 Du-7 型紫外与可见光光度计进行 SOD 测定,同时采手指血测定血红蛋白。本试验组内和组间误差分别为 3.2%、4.5%,回收率为 96~103%。用 $\mu\text{g}/\text{hb}$ 表示其量。

1.2.2 血清 LPO 采用硫代巴比妥酸(TBA)荧光测

定法^[3,4] 标准液用四乙氧基丙烷(Fluka 公司出品),使用 PEKIN-ELMER 公司的 MPF-66 型荧光光度计测定荧光强度。用 nmol/ml 表示 LPO 的含量。本试验组内和组间误差分别为 4.4% 及 5.8%,回收率 106.5%。

1.2.3 血清 VE 按荧光法测定^[4] 将游离 VE 标准储存液(DL- α -tocopherol, Merck, 含量 99%)用重蒸馏乙醇稀释成一定浓度后,进行血清 VE 检测,回收率为 96~105%,重复试验 CV 为 1.4%。用 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 表示其量。

以上测得结果均经统计学 t 检验。

2 结果

2.1 各型白血病患者 RBC·CuZn-SOD 活性,血清 LPO、VE 水平测定结果分别与正常人比较,见表 1。(在 ANLL 各亚型中,各组例数相差悬殊,不再分别与正常人作对比)。

2.2 急性白血病(AL)患者缓解前后 RBC·CuZn-SOD 活性、血清 LPO、VE 水平的变化:对 15 例 AL 患者(ANLL12 例, ALL3 例)进行动态观察,治疗前及缓解后, RBC·CuZn-SOD 活性、血清 LPO、VE 水平分别与正常人比较,见表 2。

3 讨论

SOD 是所有有氧代谢细胞生存所必须的一种酶,它能有效地清除代谢过程中产生的超氧阴离子自由基(O_2^-),SOD 活性高低能反应自由基含量^[5~8],自由基作用于细胞脂类,引起脂质过氧化反应,其产物为 LPO,通过 LPO 含量的测定,能反映机体脂质过氧化反应程度和自由基含量^[6]。活性

表 1 各型白血病患者 RBC · CuZn-SOD 活性、血清 LPO、VE 水平测定结果分别与正常人比较

组 别	例 数	SOD $\mu\text{g}/\text{hb}(\bar{x} \pm s)$	LPO $\text{nmol}/\text{ml}(\bar{x} \pm s)$	VE $\mu\text{g}/\text{ml}(\bar{x} \pm s)$
正常组	26	1201.36 \pm 135.95	4.42 \pm 1.90	10.10 \pm 2.12
急白组	34	1856.57 \pm 264.99 **	6.41 \pm 2.53 **	6.79 \pm 2.20 **
ANLL	26	1849.30 \pm 240.41 **	6.65 \pm 2.45 **	6.68 \pm 2.02 **
M ₂	19	1854.21 \pm 195.31	6.49 \pm 1.94	6.96 \pm 1.24
M ₃	3	1810.20 \pm 164.40	7.11 \pm 1.21	7.41 \pm 1.01
M ₄	1	1829.51	9.21	6.02
M ₅	2	1791.20 \pm 170.20	7.01 \pm 1.31	5.88 \pm 1.70
M ₆	1	1961.21	6.82	7.21
ALL	8	1874.29 \pm 198.88 **	6.39 \pm 2.19 **	6.63 \pm 1.84 **
慢粒组	10	1735.50 \pm 264.77 **	7.09 \pm 1.95 *	6.99 \pm 2.53 *

注: 与对照组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 未加“*”者未作统计学处理。

表 2 15 例 AL 患者治疗前后 RBC · CuZn-SOD 活性、血清 LPO、VE 水平与正常人比较

组 别	例 数	SOD $\mu\text{g}/\text{hb}(\bar{x} \pm s)$	LPO $\text{nmol}/\text{ml}(\bar{x} \pm s)$	VE $\mu\text{g}/\text{ml}(\bar{x} \pm s)$
正常组	26	1201.36 \pm 135.95	4.42 \pm 1.90	10.10 \pm 2.12
AL 组	治疗前	1890.60 \pm 290.80 *	6.32 \pm 2.24 *	6.92 \pm 2.30 *
	缓解后	1301.90 \pm 124.80 **	4.87 \pm 1.70 **	9.98 \pm 2.29 **

注: * $P < 0.05$ ** $P > 0.05$

氧在体内的生成与清除的平衡受到破坏, 可能是致癌的重要原因。白血病细胞中 SOD、 O_2^- 的测定较其他肿瘤细胞开展得晚, 1974 年, Yamanka^[9]最先测定了白血病细胞内 SOD 的活性, 结果: 粒、单核、淋巴细胞白血病细胞内总 SOD 的活性明显高于正常相应细胞水平。孙氏^[10]由体外实验证实了 O_2^- 的释放能力随细胞分化而增多。本文结果证实急、慢性白血病患者治疗前 RBC · CuZn-SOD 活性明显增高, 这与文献报道的白血病细胞内 SOD 的活性变化相一致^[9]。在急、慢性白血病患者中, 慢性白血病其白血病细胞的分化程度较急性白血病为好, 本组资料中可以看出, AL 组中, SOD 的活性(均值)比 CML 组为高, 虽因例数少未作统计学处理, 但初步提示随白血病细胞的分化, 其 RBC · CuZn-SOD 的活性减低。Saito^[11]等研究证实, 白血病细胞内 SOD 量的异常增多是转录水平上的调节造成的。白血病是造血干细胞基因突变所致, 既然能在转录水平上调节白血病细胞内 SOD 量的异常增多, 同样也可能在转录水平上调节其红细胞内 SOD 量异常增多, 这种推测尤待进一步证实。本文结果显示, LPO 含量明显增高, 提示脂质过氧化自由基反应增强, O_2^- 的产生过多, O_2^- 极不稳定, 可自发或经 SOD 等催化形成过氧化氢(H_2O_2)和具有高度活性的羟自由基(OH^-)^[6,8]。自由基、过氧化氢和过氧化物可使核酸发生主链断裂、碱基修饰、交联等变化, 此类变化可能在白血病的发生、发展中起重要作用。VE 是

细胞内重要的 OFR 抗氧化剂, 它与不饱和脂肪酸竞争性地与过氧化脂质结合以中止过氧化作用和自由基的连锁反应。VE 能清除超氧化物, 阴离子自由基, 羟自由基, 单线状分子氧, 脂质过氧化自由基及其它自由基, 它主要存在于细胞中, 因此, 在保护细胞使之免受自由基破坏方面起重要作用。白血病患者血清 VE 水平明显低于正常, 可能系白血病时机体内 LPO 异常增高, 抗脂质过氧化、OFR 的清除使 VE 大量消耗所致。

本文对 15 例 AL 患者治疗前及缓解后 RBC · CuZn-SOD 活性、血清 LPO、VE 水平作了比较, 发现缓解后的病人中其 RBC · CuZn-SOD 活性、血清 LPO、VE 水平均能逐渐恢复正常。

总之, 白血病患者中, 自由基含量, 活性氧在体内的生存与清除是一个复杂的问题, 有人认为, 白血病是机体致病因子与抗氧化活性之间平衡障碍的一种形式^[12]。动态观察 RBC · CuZn-SOD 活性, 血清 LPO、VE 水平的变化以维持机体氧化与抗氧化平衡应该是预防白血病发生发展的一条合理途径, 而且对观察白血病病情变化, 判断预后均有一定意义, 在白血病的治疗中引入如 VE 等自由基清除剂、抗氧化剂作为白血病的预防性、辅助性治疗, 这将是白血病治疗上的又一进展。

参 考 文 献

- 1 丁克祥, 钟水先, 姚树人. 指血超氧化物歧化酶微量快

- 速测定法的研究. 老年学杂志, 1987, 7(2):42.
- 2 方允中, 刘智峰. 抗牛 CuZn-SOD 抗血清与恶性肿瘤病人血中 CuZn-SOD 的抗原抗体反应. 中华医学杂志, 1987, 67(6):351.
- 3 周朔, 辛中国, 孙国光, 等. 血清过氧化脂质的测定和意义. 白求恩医科大学学报, 1985, 11(4):358.
- 4 Yagik. Assay for Serum Lipid Peroxid Level and its Clinical Significance. New York: Academic press, 1982:223.
- 5 凌虹, 唐文溢. 血清游离维生素 E 荧光测定法. 临床检验杂志, 1990, 8(1):17.
- 6 莫简主编. 医用自由基生物学导论. 第 1 版. 北京人民出版社, 1989:2.
- 7 王文杰. 超氧自由基与超氧化物歧化酶生理科学进展. 1985, 16(3):196.
- 8 Southorn P A, Powis G, Phil D. Free Radicals in Medicine, I Chemical Nature and Biological Reactions. Mayo Clin Proc, 1988, 63(4):381.
- 9 Yamanka N. Biochemical and Medical Aspects of Active Oxygen (Hyaichio & Asadak, Eds) University of Tokyo Press Tokyo, 1978:183.
- 10 孙存普. 解放军医学情报, 1987, 1(6):254.
- 11 Saito H. FEBS Lett, 1989, 249(2):253.
- 12 Bequin Y, Brasseur F, Weber G, et al. Observations of Serum Trace Elements in Chronic Lymphocytic Leukemia. Cancer, 1987, 60(8):1842.

Red Cell Superoxide Dismutase Serum Lipid Peroxides and Vitamin E Levels in Patients with Leukemia

Gu Feng-ying, et al

Department of Hematology, Gan Quan Hospital,

Affiliated to Shanghai Tie Dao University. (200065)

This article deals with determining the activity of the red cell superoxide dismutase (RBC-Cu. Zn-SOD), serum lipid peroxides (LPO) and vitamin E (VE) in 44 cases of leukemia. The results indicated that activity of the RBC-Cu. Zn-SOD and LPO levels were markedly increased ($P < 0.01$) in patients of leukemia. Whereas VE concentration was notably decreased ($P < 0.01$). Trend observations have been made on 15 cases of acute leukemia. They had remission after treatment and their levels of RBC-Cu. Zn-SOD, LPO and VE went up to basically normal. These changes suggested that there was the disturbance of equilibrium between production and elimination of oxygen free radical in patients with leukemia. It revealed that disturbance of equilibrium is partially recovered from treatment.

Key Words: Leukemia Superoxide dismutase Lipid peroxides Vitamin E

欢迎订阅《实用肿瘤杂志》

本刊是由浙江医科大学主办的学术性双月刊, 1986 年创办, 1992 年入选《中文核心期刊要目总览》。本刊辟有专题讨论、论著、实验研究、短篇报道、误诊分析、技术与经验、综述与讲座等栏目, 以实用见长。1997 年专题讨论栏目拟以肝癌复发转移的防治; 不能切除肝癌的治疗; 肿瘤临床化疗设计与评价; 晚期癌症患者的社会医学; 胃癌和肺癌诊治进展为重点组织有关专家撰写专题笔谈, 并相应增发有关文稿, 欢迎广大读者踊跃投稿与订阅。

逢双月 10 日出版, 16 开, 48 页, 单价 3.00 元, 全年 18.00 元。刊号 CN33-1074/R ISSN1001-1692, 邮发代号 32-87。若邮局订阅延误, 可汇款至杭州延安路浙江医科大学《实用肿瘤杂志》编辑部补订, 每期外加邮资: 平寄 0.30 元, 挂号 0.60 元。邮政编码: 310006, 电话: (0571)7022700-305。