

# 损伤肌肉中超氧化物歧化酶 活性及丙二醛含量变化<sup>①</sup>

陈玉川<sup>②</sup> 竞花兰<sup>1</sup> 祝家镇<sup>1</sup> 罗汉川<sup>2</sup> 吴伟康<sup>2</sup>

(1 中山医科大学法医病理学教研室; 2 病理生理学教研室; 广州, 510089)

**提 要** 本研究在大鼠的肌肉损伤模型上,探讨测定超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量的变化,推断生前、死后损伤的可能性。结果显示:生前实验组伤侧肌肉的SOD活性与对照侧肌肉相比明显减少,有显著性差异( $P < 0.01$ ),MDA的含量与对照侧肌肉相比明显增加,有显著性差异( $P < 0.01$ );死后实验组伤侧肌肉的SOD活性、MDA含量与对照侧肌肉相比无显著性差异( $P > 0.05$ )。生前损伤组SOD活性、MDA含量的差值与正常组和死后损伤组相比,有显著性差异( $P < 0.01$ );正常组SOD活性、MDA含量差值与死后损伤组差值相比,无显著性差异( $P > 0.05$ )。实验表明:通过检测局部组织肌肉的SOD活性及MDA含量可区分生前、死后伤。可望在今后的法医学实践中验证使用。

**主题词** 肌/损伤; 自由基去除剂; 超氧化物歧化酶/分析; 丙二醛/分析; 肌/化学; 肌/酶学; 时间因素; 大鼠,近交 WF

**中图分类号** D919.1; 919.4

生前、死后损伤的判断是法医学的重要研究课题之一。过去的几十年间,世界各国的法医学者对此进行了广泛深入的研究,包括:①损伤组织中酶的变化;②损伤局部组织中炎症介质含量的变化;③损伤后凝血系统的反应;④损伤局部组织血浆渗出物的变化;⑤损伤局部组织元素含量的变化等<sup>[1]</sup>。自 McCord<sup>[2]</sup>于1969年首次从牛红细胞中提纯SOD并阐述其在生物学中的意义以来,自由基与SOD学说一直是生命科学中最活跃的领域之一。近年来大量研究材料表明:许多疾病的发生发展过程中均有自由基的参与,尤其是自由基诱导的脂质过氧化反应与器官、组织、细胞的损伤有密切关系<sup>[3]</sup>。当组织缺血缺氧时,在辅酶Ⅰ氧化酶作用下NADPH(还原型辅酶Ⅰ) $\rightarrow$ NADP<sup>+</sup>(氧化型辅酶Ⅰ),而O<sub>2</sub>则接受一个电子成为超氧阴离子自由基O<sub>2</sub><sup>-</sup>。超氧化物歧化酶(SOD)是自由基的消除剂。丙二醛(MDA)是自由基引发

的脂质过氧化反应的一种产物,其水平可反映体内自由基的含量<sup>[4]</sup>。测定两者在体内的变化,可间接反映组织细胞损伤的程度。许多学者将其用于心肌缺血、肿瘤、衰老的研究,已取得一定的成果<sup>[5~7]</sup>。SOD、MDA在生命科学的重要性引起法医学界的重视,但至今未见SOD、MDA在局部损伤及生前与死后损伤中的变化报道。本文通过大鼠实验模型探索SOD、MDA在生前与死后损伤中的变化,以便摸索出一种鉴别生前与死后伤的方法,并用于法医学实践。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物与分组

Wistar大鼠由中山医科大学实验动物中心提供。大鼠26只,雌雄不拘,体重153~210g之间,随机设计,分正常无伤对照组( $n = 9$ ),生前损伤组( $n = 9$ ),死后损伤组( $n =$

① 本课题由卫生部科研基金资助;

② 第一作者,1948年出生,男,硕士,副教授

8)。

## 1.2 实验过程与测定方法

1.2.1 3组的实验过程 正常无伤对照组:采用断脊髓法将大鼠处死后30min,分别在左、右大腿取肌肉100mg,测定SOD、MDA含量。生前损伤组:在左侧大腿用铁钳造成肌肉挫伤,45min后用同样方法将大鼠处死。30min后分别取损伤肌肉及对侧(右侧)肌肉100mg供测定并作对照。死后损伤组:用同样方法将大鼠处死,30min后用同一铁钳在大鼠左侧大腿造成损伤。再经30min后分别在死后损伤处及对侧(右侧)肌肉各取100mg,供测定并作对照。

1.2.2 测定方法 将检材置1~4℃温度下,分别加0.9%生理盐水2ml,匀浆、离心(3000r/min,20min),取上清液。3组分别用邻苯三酚法测SOD的活性<sup>[8]</sup>(测定试剂盒购自广州海军抗衰老研究中心);再用TBA法测定MDA的含量<sup>[9]</sup>。

## 2 结果

### 2.1. 3组的SOD活性和MDA含量的变化结果

生前损伤组肌肉SOD活性(25.81±5.67U/100mg)与对照侧肌肉(39.75±7.24U/100mg)相比明显减少,有显著性差异( $P < 0.01$ );而MDA含量(40.38±7.49nmol/100mg)与对照侧肌肉(26.71±4.46nmol/100mg)相比明显增加,有显著差异( $P < 0.01$ )。正常组两侧肌肉SOD活性(左侧42.39±5.54U/100mg,右侧43.10±5.53U/100mg),MDA含量(左侧29.10±4.98nmol/100mg,右侧27.04±3.71nmol/100mg)相比无显著性差异( $P > 0.05$ )。死后损伤组肌肉SOD活性(35.82±7.64U/100mg),MDA含量(30.24±4.88nmol/100mg)与对照侧肌肉SOD活性(38.65±8.18U/100mg),MDA含量(28.25±2.29nmol/100mg)相比无显著性差异( $P >$

0.05)。

### 2.2 3组的SOD活性、MDA含量的差值相比

生前损伤组SOD活性、MDA含量的差值与正常组和死后损伤组相比,有显著性差异( $P < 0.01$ )。

### 2.3 正常组与死后损伤组差值之比

正常组差值与死后损伤组差值相比,无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 2.4 统计学处理

3组的肌肉SOD活性和MDA含量差值是用方差分析与秩和来检验,其结果分别见表1、表2。

表1 大鼠生前与死后损伤肌肉的SOD活性差值检验<sup>1)</sup>( $\bar{x} \pm s$ )

编号组别	n	取材部位 (只)(大腿肌肉)	SOD活性 (U/100mg)	H	P
1 正常无伤组	9	左侧 右侧	7.08±7.43		
2 生前损伤组	9	伤侧(左) 对侧(右)	13.94±6.71	22.2	<0.01
3 死后损伤组	8	伤侧(左) 对侧(右)	2.88±4.93		

1)方差检验表明:方差不齐,故用秩和检验。  
两两比较:1:2( $q=6.59, P < 0.01$ );2:3( $q=8.05, P < 0.01$ );1:3( $q=1.74, P > 0.05$ )

表2 大鼠生前与死后损伤肌肉MDA含量差值检验<sup>1)</sup>( $\bar{x} \pm s$ )

编号组别	n	取材部位 (只)(大腿肌肉)	MDA含量 (nmol/100mg)	H	P
1 正常无伤组	9	左侧 右侧	2.06±3.47		
2 生前损伤组	9	伤侧(左) 对侧(右)	13.67±4.01	11.91	<0.01
3 死后损伤组	8	伤侧(左) 对侧(右)	1.99±4.71		

1)方差齐性检验表明:方差不齐,故用秩和检验。  
两两比较:1:2( $q=8.86, P < 0.01$ );2:3( $q=7.09, P < 0.01$ );1:3( $q=1.69, P > 0.05$ )

### 3 讨 论

生前、死后损伤的鉴定在案件侦破及案件性质的判断等均有重要的意义,多年来各国学者都在探索各种简便、可靠的鉴定方法。近年来,许多研究已表明:氧自由基参与多种严重疾病的病理过程。脂质过氧化作用是指在不饱和脂肪酸中发生一系列的自由基反应,它是造成组织损伤的重要原因。在正常生理状态下,体内虽有氧自由基不断产生,但不易发生蓄积和引起过氧化损伤,这是由于体内存在一系列自由基清除系统(酶及非酶物质),使得自由基的产生与清除之间保持动态平衡的结果。其中 SOD 起着重要的作用。SOD 是一种类金属酶,广泛存在于需氧和耐氧的生物体的各组织内。其功能是不断地对细胞产生的超氧阴离子( $O_2^-$ )起歧化作用( $CO_2 + O_2^- + 2H \longrightarrow H_2O_2 + O_2$ ),从而消除  $O_2^-$  增多引起的连锁反应,以保护细胞免受损伤<sup>[3]</sup>。MDA 是脂质过氧化的最终产物之一,它可间接反映氧自由基含量的水平。

实验结果表明,生前损伤组局部 SOD 活性明显低于对侧(对照)肌肉( $P < 0.01$ ),而 MDA 含量明显高于对侧(对照)肌肉( $P < 0.01$ )。这说明局部损伤后,由于局部的缺血,缺氧以及炎症介质作用,缺血组织细胞可能会出现一系列对氧利用及代谢的异常。缺血组织可产生大量的自由基。在自由基大量产生的同时,体内负责消除自由基的 SOD 即发挥作用。然而,因为自由基产生过多可使 SOD 不断消耗。此外,缺血缺氧组织细胞功能障碍使 SOD 合成减少,所以 SOD 活性明显下降。同时,由于体内自由基清除功能减弱而使自由基蓄积于体内引起连锁反应,导致局部组织的脂质过氧化反应加强,其产物 MDA 增多。而死后损伤组,由于体内新陈代谢停止,生活反应的中断,结果死后损伤局部肌肉 SOD 活性及 MDA 含量与对侧对照相

比,无明显变化( $P > 0.05$ )。实验表明:通过检测局部组织的 SOD 活性及 MDA 含量,可区分生前、死后损伤。可望在今后的法医学实践中验证使用。

### 参 考 文 献

- 1 傅晨钟,祝家镇. 机械性损伤受伤时间推断的法医学研究进展. 中国法医学杂志,1988,3(1): 57
- 2 McCord JM and Irwin F. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). J Biol Chem, 1969, 244 (22): 6049
- 3 敖桀男,钱振坤,叶望云,等. 家兔内毒素性 DIC 时血清 LPO 含量、红细胞 SOD 活力的变化意义. 中国病理生理杂志,1991,7(3): 318
- 4 杨惠玲,简志瀚. 小鼠艾氏腹水血清 MDA 与癌细胞腺苷酸环化酶及 cAMP 变化的相关研究. 中国病理生理杂志,1990,6(3): 137
- 5 吴伟康,侯 灿,罗汉川,等. 垂体后叶素性心肌缺血模型再探,中国病理生理杂志,1993,9(2): 124
- 6 郭维新,刘明堂,郑韦勤,等. 胃癌患者 SOD 活性与 LPO 含量观察. 丁克祥主编. SOD 临床研究集,北京:原子能出版社,1992. 120
- 7 Yen TC, King KL, Lee HC, et al. Age-dependent increase of mitochondrial DNA deletions together with lipid peroxides and superoxide dismutase in human liver mitochondria. Free Radical Biology and Medicine, 1994,16(2): 207
- 8 Marklund S. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem, 1974,47(3): 469
- 9 Ohkawa H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979,95: 351

(1995-01-28 收稿 1995-04-11 修回)

# THE CHANGES OF SOD,MDA IN ANTE- AND POST-MORTEM MUSCLE WOUNDS

Chen Yuchuan<sup>1</sup> Jing Hualan<sup>1</sup> Zhu Jiazhen<sup>1</sup>

Luo Hanchuan<sup>2</sup> Wu Weikang<sup>2</sup>

(1 Department of Forensic Pathology; 2 Department of Pathophysiology  
Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510089)

The possibility of timing wound was studied by detecting activity of SOD and content of MDA in ante- and post-mortem muscle wounds. The results indicate that activity of SOD decreased significantly and the content of MDA increased significantly in muscles of antemortem wounds as compared with the control muscles. In addition, concentrations of SOD,MDA in muscles of postmortem wounds did not differ significantly from those in the control muscles. These results suggested that the method can distinguish between antemortem wound and postmortem one. We believed that it was valuable to study further with human specimens in forensic practice.

**Subject headings** muscles/injuries; free radical scarengers; superoxide dismutase/analysis; malondiadehyde/analysis; muscules/chemistry; muscules/enzymology; time factor; rats, inbred strains

· 新 成 果 ·

## 全肝血流隔离技术在肝外科中运用的系列研究

课题负责 黄洁夫

(中山医科大学附属第一医院肝胆外科,广州,510080)

该成果从1988年以来,“在常温下与低温灌注下全肝血流隔离下切肝术”和“体外肝手术”的动物实验基础上,对常温下和低温灌注下全肝血流隔离的无血切肝技术作了有成效的实验和临床研究。成功地应用于临床治疗位于中央型,尤其是靠近或侵犯第二肝门,肝静脉根部及肝后下腔静脉的巨大肿瘤切除和伴有肝后下腔静脉损伤的救治,切除两例巨大的小儿肝肿瘤和一例成人的累及肝静脉根部的转移性肝癌。

该技术的推广应用,能够提高肝肿瘤的外科切除率,增加手术的安全性,使一些手术用常规肝外科技术不能治疗的病人获得治愈的机会,也提高了对伴有血管破裂的肝外伤病人的外科处理水平。对复杂性巨大小儿肝肿瘤的切除,提供了一种有创新的外科手段,受到国内外学者的关注,已为国内外学者和多种杂志引用、参考,研究已达到国际先进水平,1994年获得了卫生部科技进步奖三等奖,同获广东省科技进步二等奖。

(陈丽芳)