

增龄与卵巢匀浆超氧化物歧化酶关系的初探^①

闫琳丽^② 邝健全

(中山医科大学孙逸仙纪念医院妇产科; 广州, 510120)

摘要 为探讨卵巢组织超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase SOD)活性与卵巢老化的关系,本研究对不同年龄组的 34例妇科剖腹手术病人的正常卵巢组织的 SOD活性和丙二醛 (malondialdehyde, MDA)含量进行测定。结果显示:年龄与卵巢组织的 SOD活性呈负相关,在围绝经期 SOD活性下降最明显,但不同年龄组卵巢组织的 MDA含量无显著性差异。提示卵巢组织 SOD活性的下降可能是卵巢老化的原因之一。

关键词 卵巢 酶学; 衰老 生理学; 超氧化物歧化酶 分析; 丙二醛 分析

中图分类号 R 339.22 R 339.38

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)是体内的一种重要抗氧化酶,它的活性在体内的变化引起体内超氧自由基 (O_2^-)净水平的改变,可能是导致氧毒性疾病和细胞衰老的原因之一,而丙二醛 (malondialdehyde, MDA)是脂质过氧化的终产物,它可反映机体内脂质过氧化程度,也是细胞自由基损伤的指标之一。国内外已有不少学者报道鼠的肝脏、心肌、大脑等组织以及人类红细胞的抗氧化酶系统的活性随年龄增加而下降,MDA则随年龄增加而升高^[1-4]。研究发现子宫内膜、宫颈、宫颈粘液和卵巢组织中呈现 SOD活性^[5-7]。卵巢 SOD可能对卵泡发育、排卵和黄体功能起调节作用^[7],动物实验及体外细胞培养已证实抗氧化酶(如 SOD、CAT)活性的下降,氧自由基 (oxygen free radical OFR)含量的增多,会致动物卵巢黄体溶解及黄体酮生成减少^[8-10]。但有关卵巢 SOD活性的改变与老化的关系目前仅有日本的 Okatani 等报道,他们发现绝经前随年龄的增长,卵巢组织匀浆 SOD和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)的抗氧化活性逐渐减弱,GSH-Px的活性在绝经后还会进一步降低^[12]。本文通过对不同年龄组卵巢匀浆的 SOD和 MDA的测定分析,探讨不同年龄卵巢组织匀浆 SOD的变化。

1 材料与方 法

1.1 研究对象

34例因子宫肌瘤、卵巢恶性肿瘤或子宫内膜

癌于 1995年 7月~1996年 4月在本院进行剖腹手术者,按年龄分为 4组: A组 (25~34岁) 6例,平均年龄 29.33岁±3.44岁; B组 (35~44岁) 10例,平均年龄 41.30±1.62岁; C组 (45~54岁) 9例,平均年龄 50.56岁±3.21岁; D组 9例 (55~62岁),平均年龄 59.22岁±2.39岁。其中 A和 B组为有规律月经周期者, C组为有规律或不规律月经及绝经 1~2年者, D组为绝经后病人,绝经年限为 3年~14年。有规律月经周期者,均在卵泡期取材。所有病例术中大体及病理证实至少一侧卵巢无病理性改变。

1.2 标本采集

术中取约 50~100 mg的正常卵巢皮质部组织,用预冷 ($0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$)的生理盐水洗净卵巢表面的血迹,吸干水分,置于 -70°C 的低温冰箱内保存,成批测定。

1.3 测定方法

1.3.1 MDA的测定 卵巢组织尽量剪碎,吸干水份,用预冷 ($0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$)生理盐水在内切式匀浆器上制备成 10%的卵巢生理盐水匀浆,采用 TBA法^[11]测定。

1.3.2 SOD的测定 同上制备 10%的卵巢生理盐水匀浆,离心 (4 000 r/min),取上清液进行测定,采用邻苯三酚自氧化法测定,由广州海军抗衰老中心提供药盒,按药盒说明书操作。药盒批间误差 1%,批内误差 0.5%。

1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,样本比较用完全随机设计的

① 本校研究生科研经费及医院科研基金资助课题; ② 第一作者, 1965年出生,女,临床博士生,医师

方差分析,组间比较用 q 检验。年龄与 SOD 活性的关系用相关分析,相关系数用 t 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 卵巢匀浆的 SOD 活性

各组卵巢组织匀浆 SOD 活性经方差分析差异有显著性意义, $P < 0.01$ q 检验进行两两比较,A 与 C 组、A 与 D 组、B 与 C 组和 B 与 D 组间有显著性差异($P < 0.05$),但 A 与 B 组、C 与 D 组间无显著性差异($P > 0.05$), (表 1)

表 1 各组卵巢匀浆的 SOD 活性和 MDA 含量 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	例数	SOD (IU/g)	MDA(nmol/g)
A	6	1296.3 \pm 101.6	114.8 \pm 21.9
B	10	1257.5 \pm 121.6	114.6 \pm 38.1
C	9	1087.1 \pm 139.3 ^{1),2)}	98.8 \pm 18.5
D	9	1021.4 \pm 155.8 ^{1),2)}	125.7 \pm 22.3
		$P < 0.01$	$P > 0.05$

1)与 A 组比较, $P < 0.05$ 2)与 B 组比较, $P < 0.05$

2.2 卵巢匀浆的 MDA 含量

MDA 含量各组间的差异无统计学意义(表 1)。

2.3 年龄与卵巢匀浆 SOD 活性的关系

年龄与卵巢匀浆的 SOD 活性呈负相关 $Y = 1612.2 - 9.9X$, $r = -0.96$, $P < 0.05$

3 讨 论

超氧化物歧化酶具有清除、防止自由基的生成和蓄积,以保护细胞免受毒害的作用。研究发现在所有灵长类中,组织和器官的 SOD 活性与种属的寿命期限成正比。国内外已有不少学者报道鼠肝脏、心肌、大脑等组织以及人类红细胞的抗氧化酶系统的活性均随年龄增加而下降^[1-4]。本研究结果表明,卵巢组织 SOD 活性随年龄增加呈进行性下降,其中在围绝经期 SOD 的活性下降最明显,这与 Okatani 等的结果一致^[12]。尽管 A 组(25~34 岁)与 B 组(35~44 岁)、C 组(45~54 岁)与 D 组(55~63 岁)的 SOD 活性差异无统计学意义,但仍可发现它们有缓慢下降的趋势。经直线相关分析发现年龄与卵巢组织

SOD 活性呈负相关($r = -0.96$, $P < 0.05$),提示随年龄的增加,卵巢组织的抗氧化能力逐渐下降,这可能也是卵巢老化的原因之一。

本研究中国绝经期组(C 组)的 MDA 含量较生育年龄组(A 和 B 组)低,而绝经后组(D 组)的 MDA 含量又升高,但各组 MDA 的含量差异无统计学意义,这些明显与其他组织 MDA 含量随年龄增加而升高^[1-4]不一致,说明卵巢组织 MDA 的含量存在组织上的差异。卵巢组织的 MDA 含量不象其他组织随年龄增加而升高,可能因为卵巢是内分泌器官,有活跃的类固醇激素合成功能。类固醇激素的合成是类固醇和胆固醇的氧化过程^[13],会产生大量的自由基。而且在卵泡和黄体有大量的巨噬细胞和中性白细胞浸润,它们是自由基的产生场所,卵泡和黄体易发生缺血,此时会诱发自由基的释放^[14,15]。而在围绝经期和绝经后卵巢类固醇激素合成明显减少,自由基的产生也可能相对减少。但绝经后 SOD 活性的下降,使组织清除自由基的能力降低,这可能是组织内的 MDA 含量又升高的原因。有关人卵巢组织 MDA 的含量报道不多,其变化机理有待进一步探讨。

有报道 SOD 的活性与芳香化酶的活性呈正相关^[12],芳香化酶活性的下降使雌激素的产生减少。而目前已注意到雌激素有抗氧化作用^[16,17],卵巢分泌雌激素的减少也可能使卵巢组织的总抗氧化能力下降,进一步影响卵巢的功能。有关这方面尚需进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 丁克祥.衰老期 SOD 的量变和质变机理及其传统中药药学的调节方法. SOD 临床研究集.北京:原子能出版社出版 1992.18
- 2 吴伟康,罗汉川,侯 灿,等.增龄对小鼠心肌 OFR 浓度 SOD 活性 MDA 含量的影响.中国老年学杂志,1994,14(4):230
- 3 Ceballos PI, Trivier JM, Nicole A, et al. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. Clin Chem, 1992, 38(1):66
- 4 王芝山,韩桂英,王 平.红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性与机体衰老关系的探讨.老年学杂志,1989,9(4):229
- 5 Jendryczko A, Drozd M, Tomala J, et al. Copper and zinc concentrations, and superoxide dismutase activities

- in malignant and nonmalignant tissues of female reproductive organs. *Neoplasma*, 1986, 33(2): 239
- 6 王瑜, 曹瓚孙, 翁其亮, 等. 宫颈粘液超氧化物歧化酶活性及其在月经周期中的变化规律. *西安医科大学学报*, 1994, 15(4): 334
 - 7 Laloraya M, Kumar GP, Laloraya MM. Histochemical study of superoxide dismutase in the ovary of the rat during the oestrous cycle. *J Reprod Fertil*, 1989, 86: 583
 - 8 Miyazaki T, Sueoka K, Dharmarajan Am, *et al*. Effect of inhibition of oxygen free radical on ovulation and progesterone production by the in vitro perfused rabbit ovary. *J Reprod Fertil*, 1991, 91(1): 207
 - 9 Hesla JS, Miyazaki T, Dasko LM, *et al*. Superoxide dismutase activity lipid peroxide production and corpus luteum steroidogenesis during natural luteolysis and regression induced by oestradiol deprivation of the ovary in pseudopregnant rabbits. *J Reprod Fertil*, 1992, 95(3): 915
 - 10 Kodaman PH, Aten RF, Behrman HR, *et al*. Lipid hydroperoxide evoke antigonadotropic and anti-steroidogenic activity in rat luteal cells. *Endocrinology*, 1994, 135(6): 2723
 - 11 Ohwaka H, Ohishi N, Yaki K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 1979, 95: 351
 - 12 Okatani Y, Morioka N, Wakatsuki A, *et al*. Role of the free radical-scavenger system in aromatase activity of the human ovary. *Horm Res*, 1993, 39(Suppl 1): 22
 - 13 Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*, 1979, 59: 527
 - 14 Cavender J, Murdoch W. Morphological studies of the microcirculatory system of periovulatory ovine follicles. *Biol Reprod*, 1988, 39: 989
 - 15 Kirsch T, Friedman A, Vogel R, *et al*. Macrophages in corpora lutea of mice: characterization and effects on steroid secretion. *Biol Reprod*, 1981, 25: 629
 - 16 Yagi K, Kumura S. Inhibitory effect of female hormones on lipid peroxidation. *Biochem Int*, 1986, 13: 1051
 - 17 张亚卓, 刘光礼, 陈晓光, 等. 性激素对老年小鼠脑中 MDA SOD活性的影响. *老年学杂志*, 1992, 12(3): 165

(1996-09-12收稿 1996-11-25修回)

A PRELIMINARY STUDY ON THE RELATIONSHIP BETWEEN SOD ACTIVITY OF OVARIAN HOMOGENATES AND AGING PROCESS

Yan Linli Kuan Jianquan

(Department of Obstetric and Gynecology, Sun Yat-sen Memorial Hospital,
Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510120)

To investigate the relationship between the ovarian aging and activity of superoxide dismutase (SOD), ovarian SOD activity and MDA content were measured in 34 surgical patients who had at least one normal ovary. The results showed there was negative correlation between age and ovarian SOD activity. SOD activity decreased dramatically during perimenopausal period. But no significant difference was found in the ovarian MDA content among groups. These results seem to suggest the decrease of SOD activity may have an important role in the ovarian aging.

Subject headings ovary / enzymology ; aging / physiology ; superoxide dismutase / analysis ; malondialdehyde / analysis