

超氧化物歧化酶检测的临床应用评价

沈振亚 翁文浩 丁黎明 龙聆群 赵莹 赵萍 张婕 孙奋勇

作者单位:200072 上海市,上海市第十人民医院检验科

通讯作者:孙奋勇, E-mail: sunfenyong@263.net

【摘要】 目的 探讨超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测的临床应用价值。方法 对 SOD 检测方法的精密度、线性范围、准确度进行评价。分别对健康对照组(n=30)、血脂异常组(n=17)、血糖异常组(n=29)、肾功能异常组(n=49)及肝胆异常组(n=38)患者进行血清 SOD 活性检测并做统计学分析。结果 SOD 检测试剂盒低浓度水平和高浓度水平的批内精密度(CV)分别为 4.8%和 0.9%,批间精密度(CV)分别为 2.4%和 2.8%。线性范围可达 50.0~249.0 U/L,相关系数 r 为 0.99;准确度结果显示水平 1(SOD 值为 150.0 U/L)的偏倚为 -2.0%,水平 2(SOD 值为 200.0 U/L)的偏倚为 -0.5%,符合相对偏差要求。健康对照组 SOD 活性明显高于血脂异常组、血糖异常组、肾功能异常组和肝胆异常组,且差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。结论 SOD 检测试剂盒方法学评价符合临床要求,表明试剂盒性能良好。SOD 水平检测对临床的疾病诊断具有较好的临床意义。

【关键词】 超氧化物歧化酶;氧化损伤;方法学评价

The evaluation of clinical application of superoxide dismutase detection

SHEN Zhen-ya, WENG Wen-hao, DING Li-ming, et al. Department of Clinical Laboratory, the Tenth People's Hospital of Shanghai, Shanghai 200072, China

【Abstract】 **Objective** To study the clinical application value of superoxide dismutase(SOD) detecting. **Methods** The precision, linear range and accuracy of the SOD detecting method were evaluated. The serum SOD activity in healthy control group(n=30), dyslipidemia group(n=17), pathoglycemia group(n=29), renal function abnormality group (n=49) and liver and gall abnormality group (n=38) were detected respectively and the results were analyzed. **Results** The low concentration and high concentration within-run precision (CV) of the SOD detection kit were 4.8% and 0.9% respectively, and between-run precision(CV) were 2.4% and 2.8% respectively. The linear range was 50.0~249.0 U/L. There correlation coefficient was 0.99. The results of accuracy showed that the bias of level 1(150.0 U/L) and level 2(200.0 U/L) were -2.0% and -0.5% respectively and consistent with relative deviation requirements. The SOD activity in healthy control group were higher than in dyslipidemia group, pathoglycemia group, renal function abnormality group, liver and gall abnormality group, and the differences all had statistical significance (P all <0.01). **Conclusion** The methodology evaluation of SOD detection kit is correspond to the clinical requirements which show that the test kit has better performance. The activity detection of SOD has better clinical significance in the diagnosis of disease.

【Key words】 Superoxide dismutase; Oxidative damage; Methodology evaluation

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是一类广泛存在于生物体内的金属酶,是清除超氧阴离子自由基对细胞损伤的一种重要的抗氧化酶。所谓自由基即含有一个或一个以上不配对电子且能独立存在的原子或原子团,它非常活泼,参与一系列连锁反应。过多的自由基会破坏细胞功能,甚至导致整个机体代谢障碍。因此,了解机体内 SOD 水平的变化对于判断体内自由基的产生与清除平衡状态以及探索疾病与 SOD 活性及机体自由基水平之间的关系有着重要的临床价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择我院 30 例年龄于 20~50 岁之间的健康体检者为健康对照组,分别选择 17 例血脂异常患者、29 例血糖异常患者、49 例肾功能损伤患者、38 例肝胆疾病患者为相应的疾病组。

1.2 标本采集 健康对照组及各疾病组均于清晨空腹抽取静脉全血 3 ml;所得样本以离心半径 16 cm,3500 r/min 离心 7 min 后分离血清待测。

1.3 主要仪器与试剂 Modular P 全自动生化分析仪;所用试剂、配套标准品及质控品(两临床水平)由福建福缘生物科技有限公司提供,产品批号 100520-02。

1.4 SOD 检测试剂盒方法学评价

1.4.1 精密度评价 精密度评价分为批内精密度和批间精密度。批内精密度选取低浓度即为水平 1(均值 49.9 U/L)、高浓度即为水平 2(均值 136.3 U/L)两个水平的临床标本,每个水平重复测定 20 次,计算其批内变异系数 CV。批间精密度选择两个水平质控品,测定 20 批,计算批间变异系数 CV。

1.4.2 线性评价 将高值标本(均值 249.0 U/L)用生理盐水按 80%、60%、40%、20%稀释,每个稀释浓度检测两次,取均值作为实测值;高值标本检测结果乘以稀释比例作为相应的理论值。以理论值为纵坐标,实测值为横坐标,进行线性回归分析,并求出相关系数。

1.4.3 准确度评价 选取质控品进行测定,SOD 标示水平为 150.0 U/L、200.0 U/L,每个水平测定 5 次,计算测定结果与标示值的相对偏差。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 11.1 统计学软件处理数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 试剂盒评价结果

2.1.1 精密度检测结果 由表 1 可见,该检测方法批内精密度(CV)水平 1 为 4.8%,水平 2 为 0.9%,批间精密度水平 1 为 2.4%,水平 2 为 2.8%。

2.1.2 线性评价结果 线性实验表明,SOD 在 50.0~249.0 U/L 的线性范围良好,回归方程为 $y = 1.0235x + 3.0348$,相关系数 r 为 0.99。

表 1 精密度检测结果

组别	例数		\bar{x}	<i>s</i>	CV(%)
批内	20	水平 1	49.9	2.4	4.8
		水平 2	136.3	1.2	0.9
批间	20	水平 1	142.4	3.4	2.4
		水平 2	190.9	5.4	2.8

2.1.3 准确度评价结果 由表 2 可见,准确度结果水平 1 的偏倚为 -2.0%,水平 2 的偏倚为 -0.5%。

2.2 健康对照组与各疾病组 SOD 活性比较 由表 3 可见,各疾病组 SOD 活性均低于健康对照组且差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。

3 讨论

正常情况下体内产生少量自由基,其在生理范围内可以参与机体代谢、免疫、解毒及一些重要活性物质的合成。同时,体内也存在着 SOD 等可以清除多余自由基的物质,使自由基的产生和清除处于动态平衡。SOD 是一类广泛存在于生物体内的金属

表 2 准确度检测结果

质控品(U/L)	例数	检测结果($\bar{x} \pm s$)	与标示值相对偏差(%)
150.0(水平 1)	5	147.2±0.4	-2.0
200.0(水平 2)	5	198.8±5.6	-0.5

表 3 健康对照组及各疾病组 SOD 活性比较($\bar{x} \pm s$, U/L)

组别	例数	SOD 活性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
健康对照组	30	188.5±19.0	-	-
血脂异常组	17	143.2±25.6	6.922	< 0.01
肾功异常组	49	152.3±43.5	16.050	< 0.01
血糖异常组	29	102.8±25.2	4.125	< 0.01
肝胆异常组	38	153.1±38.5	4.964	< 0.01

酶,是清除超氧阴离子自由基对细胞损伤的一种重要的抗氧化酶,其减少导致过多的自由基无法被清除。过量的自由基通过对脂质、蛋白的过氧化作用和糖化修饰、对核酸和染色体的损伤等,使细胞膜的结构和功能遭到破坏,重要酶和蛋白失活,以致机体免疫能力、运动能力和代谢受到影响,从而引发各种器官和组织的损伤及机体病变。因此 SOD 在抗衡过量自由基对机体的损伤中起着重要作用。同时,机体内 SOD 水平的变化又可以反映体内自由基的产生与清除平衡状态,检测其水平对临床有重要意义。

本文研究所选 SOD 检测试剂盒采用比色法测定血清 SOD 水平,原理是在碱性工作液中,邻苯三酚会产生自氧化显色反应,在其自氧化过程中不断产生释放超氧阴离子,SOD 催化超氧阴离子自由基的歧化,使之转化为过氧化氢和水。当 SOD 活性降低时,歧化反应抑制,超氧阴离子浓度升高,邻苯三酚的自氧化显色反应强度减弱,即其显色反应与 SOD 活性呈正相关。通过对本试剂盒的评估,其精密度基本符合临床要求,批内和批间变异系数均在 5% 以下,线性范围为 50.0~249.0 U/L,相关系数 r 达 0.99,相对偏差都在 5% 以下,准确度也较高,表明试剂盒性能良好。

本文中健康对照组 SOD 活性明显高于血脂异常组和血糖异常组(P 均 < 0.01)。这与一些早期糖代谢紊乱、糖尿病的相关研究^[1,2]结果一致。在患糖尿病时,高血糖和高血脂的异常状态使机体产生大量活性氧,消耗大量内源性抗氧化剂 SOD,引起氧化应激,进而导致胰岛素抵抗^[3]。同时在糖尿病相关并发症如糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变中,SOD 活性也有降低^[4,5]。本文研究结果显示,肝胆疾病组 SOD 活性明显低于健康对照组($P < 0.01$),与文献^[6-9]报道梗阻性黄疸、脂肪肝、肝硬化和肝癌、肝性脑病中 SOD 活性均有明显下降一致。酒精性肝损伤、四氯

化碳肝损伤、二甲基亚硝胺肝损伤、药源性肝损伤、非酒精性肝损伤、缺血再灌注性肝损伤、免疫性肝损伤、二氧化碳气腹肝损伤、氯化镉诱发的肝损伤、放射性造影剂诱发的肝损伤等均与氧化损伤相关, SOD 几乎用于所有类型的肝损伤模型,并在许多保肝药物研究中广泛应用。肾脏疾病患者 SOD 水平也较正常对照组显著下降($P < 0.01$)。此外,在高血压病、冠心病、硅肺、活动性肺结核、慢性阻塞性肺疾病、肺心病并发多器官衰竭、白血病、风湿性疾病、肿瘤等疾病中, SOD 活性均有明显改变^[10-15]。同时, SOD 活性与癌症病死率风险评估紧密相关,其超表达可降低肿瘤的发生率^[16]。SOD 还可通过增加骨髓质血流量来降低血压,可改善并提高溃疡性结肠炎患者的生活质量,并参与组织转移瘤的迁徙^[17-19]。大量数据表明,自由基产生过多或清除减少以及 SOD 活性的下降在疾病的发生机制中有很重要的地位,且可以进一步促进疾病的发展。

综上, SOD 活性测定对临床很多疾病的诊断有一定帮助。虽然究竟是自由基的增多致使 SOD 大量消耗而减少是始动因素,还是 SOD 的活性减低导致自由基的清除障碍是始动因素目前尚无定论,而且 SOD 对临床诊断没有特异性,但基于 SOD 对于机体受自由基损伤程度的灵敏反应及与疾病极强的相关性来说,对其活性的测定有着较好的临床意义。

4 参考文献

- 1 Kasperczyk S, Przywara B, Kasperczyk A, et al. Effect of hyperglycemia on glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity in patients with newly diagnosed carbohydrate metabolism disturbances. *Wiad Lek*, 2002, 55: 270-275.
- 2 姚纲, 马兴钢. 糖尿病患者超氧化物歧化酶和过氧化脂质的测定及临床意义. *中国实验诊断学*, 2011, 15: 921.
- 3 孙毓蔓. 超氧化物歧化酶和氧磷脂酶-1 在 2 型糖尿病肾病患者血清中的表达及临床意义. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 26: 1120-1121.
- 4 Al-Kateb H, Boright AP, Mirea L, et al. Multiple superoxide dismutase 1/splicing factor serine alanine 15 variants are associated with the development and progression of diabetic nephropathy: the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of diabetes interventions and complications genetics study. *Diabetes*, 2008, 57: 218-228.
- 5 Kangas-Kontio T, Vavuli S, Kakko SJ, et al. Polymorphism of the manganese superoxide dismutase gene but not of vascular endothelial growth factor gene is a risk factor for diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*, 2009, 93: 1401-1406.
- 6 巩鹏, 许海波, 张嘉宁, 等. PPARs、NF- κ B 及 SOD 在梗阻性黄疸

大鼠肝脏损害中的作用. *中华肝胆外科杂志*, 2010, 16: 506-507.

- 7 王一平, 谭华炳, 王记红, 等. 非酒精性脂肪性肝病兔肝组织甘油三酯、丙二醛、超氧化物歧化酶与血浆内皮素的关系. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 5: 971-975.
- 8 Nahon P, Sutton A, Rufat P, et al. Myeloperoxidase and superoxide dismutase 2 polymorphisms comodule the risk of hepatocellular carcinoma and death in alcoholic cirrhosis. *Hepatology*, 2009, 50: 1484-1493.
- 9 陈赞雄, 吴振华, 林健. 肝硬化并肝性脑病患者血浆和脑脊液超氧化物歧化酶的测定及意义. *医师进修杂志*, 2003, 26: 17-18.
- 10 骆世棠. 高血压病患者血清一氧化氮和超氧化物歧化酶水平的临床意义. *临床医学*, 2009, 29: 97-99.
- 11 Kim H, Morimoto Y, Ogami A, et al. Differential Expression of EC-SOD, Mn-SOD and CuZn-SOD in Rat Lung Exposed to Crystalline Silica. *J Occup Health*, 2007, 49: 242-248.
- 12 王慧, 卢文菊, 陈柏铭. 慢性阻塞性肺病患者红细胞内超氧化物歧化酶的测定及其临床意义. *现代临床医学生物工程学杂志*, 2003, 9: 50.
- 13 李志斌, 邹霞英, 翁如萍, 等. 肺心病并发多器官衰竭患者血丙二醛和超氧化物歧化酶测定的意义. *内科急危重症杂志*, 1997, 3: 103-104.
- 14 Tsai LY, Tung JN, Liu TZ. Distinct Differences in the Induction of Stimulus-mediated Superoxide Generation by Polymorphonuclear Neutrophils Isolated From Patients With Different Types of Leukemia. *Journal of the Formosan Medical Association*, 2008, 107: 513-518.
- 15 Yao S, Barlow WE, Albain KS, et al. Manganese superoxide dismutase polymorphism, treatment-related toxicity and disease-free survival in SWOG 8897 clinical trial for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 124: 433-439.
- 16 Pham TM, Fujino Y, Nakachi K, et al. Relationship between serum levels of superoxide dismutase activity and subsequent risk of cancer mortality: Findings from a nested case-control study within the Japan Collaborative Cohort Study. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2009, 10: 69-73.
- 17 Onuma S, Nakanishi K. Superoxide dismutase mimetic tempol decreases blood pressure by increasing renal medullary blood flow in hyperinsulinemic-hypertensive rats. *Metabolism*, 2004, 53: 1305-1308.
- 18 Ishihara T, Tanaka K, Tasaka Y, et al. Therapeutic Effect of Lecithinized Superoxide Dismutase against Colitis. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 328: 152-164.
- 19 Hyoudou K, Nishikawa M, Kobayashi Y, et al. SOD derivatives prevent metastatic tumor growth aggravated by tumor removal. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25: 531-536.

(收稿日期: 2011-07-18)

(本文编辑: 张志成)