

食管癌患者硒营养状况的评价^①

沈文英

杨逸萍 胡明辉

(汕头大学医学院)

(厦门大学亚热带海洋研究所)

摘要 以机体硒水平、GSH-Px、SOD的活性、相关的抗癌致癌元素的综合效应比值、食管癌死亡率与硒等元素的多元回归分析及MDA的含量等综合指标,评价食管癌患者的硒营养状况。结果表明,食管癌患者的营养状况差,表现为:硒水平低、含硒酶GSG-Px以及抗氧自由基的SOD活性差,脂质过氧化加剧;MDA含量高将使核酸、蛋白质等含氨基活性物质产生交联反应而使细胞失活。食管癌患者硒营养状况差,与癌肿的一定相关关系,是否确为致癌因素,有待深入研究。

关键词 食管癌, 硒, SOD, GSH-Px, MDA

中国图书分类号 R 151.1

硒是人体必需的微量元素。大量的研究表明,硒在体内具有多种功能:参与GSH-Px的合成^[1~2],保护细胞膜的结构和功能,具有抗氧化作用^[3],参与三羧酸循环中某些酶(如辅酶A、Q)的合成,提高免疫功能^[4],改善心血管系统的结构与功能^[5],拮抗和降低某些有害元素(Hg、Cd、As、Te等)的毒性,起一定抗癌作用^[6]。

为了评价食管癌患者(ECP)体内硒的营养状况,我们对ECP和健康人的血样,食管癌(EC)组织和正常组织的硒水平,酶(GSH-Px, SOD)活性、有关的微量元素以及脂质过氧化物的含量[以丙二醛(MDA)表示]等进行分析,同时引用前EC高低发区人群头发样中硒等有关元素的测定结果,结合参照说明,以探索诸因素与食管癌的关系。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

RF-510LC 荧光分光光度计(岛津), 120-2型UV-Vis分光光度计(岛津), ICP-AES, Beckman ICP-SSV型等离子体发射光谱仪, WL-5001型微波消解炉。

二氨基萘、环己烷、标准硒、黄嘌呤、黄嘌呤氧化酶、氰化钾、羟胺、甲萘胺、对氨基苯磺酸、叠氮化钠、硫代巴比妥酸、四乙氧基丙烷、钨酸,均为AR级以上试剂。

1.2 样 品

血样:食管癌患者男女32人,汕头大学教工,男女相应年龄,晨血,冰冻送检。组织样:44个肿瘤住院手术病人,同时取其食管癌组织及癌旁正常粘膜,经病理检验后送检。

1.3 方 法

组织样及其标样、血样,均以微波炉-聚四氟乙烯闷罐高压消化。组织样分析的标样为肝粉GB 08504。

硒含量以二氨基萘荧光分光光度法^[7]进行测定。

① 本文1993-10-20收到; 本文在硒在生物和医学中应用及对策国际学术会(1993)上报告过

GSH-Px 活性测定:红细胞中的 GSH-Px 活性定义为:每 8 μl 全血在 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min 使 GSH 深度降低 1 $\mu\text{mol/L}$ 作为一个酶活力单位^[8]。

血中的 SOD 测定:以黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶- NH_2OH 体系分别测定 Mn-SOD、Cu、Zn-SOD 活性^[9]。其活力单位定义:在 pH8.2, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 30 min, 每 ml 反应液中 SOD 抑制率达 50%, 对应的酶量为一个亚硝酸盐单位(Nu/ml)。

MDA 测定:血浆中的 MDA 以硫代巴比妥酸(TBA)比色测定^[10]。

微量元素 Pb、Cd、As、Ni、Zn、Cu 等以等离子体发射光谱及溶出伏安法测定^[11]。

2 结果与讨论

2.1 机体中的硒水平

ECP 的血样和健康人血样、ECP 的食管癌组织及其正常组织样中硒含量测定数据, 经统计处理结果示于表 1。为参照起见, 我们引用前 EC 高发区和低发区健康人发含硒浓度的检测结果^[11], 并列于表中, 以便探讨。

表 1 血、食管组织与头发样中硒含量的统计结果

Tab. 1 Statistical analysis of Se levels ($\bar{x} \pm s$) in the samples of blood, EC tissues and hair⁽¹⁾

样品	检测目标	t	p	参考文献
全血	$\frac{\text{ECP}(n=32)(\text{mg/L})}{0.087 \pm 0.047}$ $\frac{\text{健康人}(n=30)(\text{mg/L})}{0.125 \pm 0.083}$	2.23	<0.05	本文
食管组织	$\frac{\text{癌组织}(n=44)(10^{-4}\%)}{0.98 \pm 0.42}$ $\frac{\text{正常组织}(n=44)(10^{-4}\%)}{0.67 \pm 0.32}$	3.89	<0.01	本文
发样	$\frac{\text{EC(H)}(n=98)(10^{-4}\%)}{1.56 \pm 0.88}$ $\frac{\text{EC(L)}(n=107)(10^{-4}\%)}{2.80 \pm 1.74}$	3.60	<0.01	[11]

1) EC(H)及 EC(L)分别为食管癌高低发区健康人群

据文献报道, 血小板含硒量最高, 红细胞次之, 全血更次, 最后是血浆(或血清), 其中血小板硒表示现存之水平, 红细胞硒表示较长时期积存的硒状态, 而血浆硒表示近期状态^[12,13]。表 1 中的硒含量, 是全血硒含量。表 1 可见, ECP 全血含硒约为健康人的 70%, 两者差异在统计上有显著意义($P < 0.05$)。我们所测定的 EC 组织样中的硒含量, 平均比正常组织高出近 50%。癌组织与正常粘膜组织的硒含量前者比后者高, 其差异有非常显著意义($P < 0.01$)。硒已知有刺激免疫球蛋白及抗体的产生, 增强机体抵抗力的作用^[4], 故可能为了抗癌, 机体浓集大量硒于局部, 以抑制前致癌物转化为最终致癌所需的氧化反应。体外试验提示硒使肿瘤细胞在活体内的增殖力减弱, 控制瘤细胞的生长分化而对宿主的正常细胞无不良作用^[6]。

2.2 食管组织硒水平

EC 组织及正常粘膜组织中硒及有关其他 11 个微量元素测定值的统计结果见表 2, 其中 Ca、Mg、Fe、Zn、Al 和 Cr 含量较高, 在 $2.0 \times 10^{-2}\%$ ~ $1.2 \times 10^{-3}\%$ 范围, 其余元素 $5 \times 10^{-4}\%$ ~ $0.1 \times 10^{-4}\%$ 范围。EC 组织和正常组织含量差异显著的元素只有 Se 和 Pb。我们就选这两元素作多元回归, 结果示于表 3。表中可见 EC 发病率与 Pb 含量正相关, 而同 Se 含量呈负相关。表中提供前文 EC 高发区人发样的统计回归结果, Pb 和 Se 也分别呈类似的正负相关。这再次意味 Pb 和 As、Cd 等元素致癌和 Se 具抗癌作用。动物试验表明, 在给 Cd、Pb、As 等致突变的

表 2 食管组织中微量元素含量测定值的统计分析

Tab. 2 Statistical analysis of micro-elements in the esophageal tissues

元素	癌组织(n=44)	正常组织(n=44)	t	p
Zn	44.3±40.3	45.4±31.2	0.55	
Mn	1.30±0.57	1.50±0.40	1.88	
Ca	193±189	218±166	1.75	
Cr	12.2±7.50	12.6±12.4	1.44	
Mg	160±84.0	156±128	0.58	
Se	0.98±0.42	0.67±0.32	3.89	<0.01
Fe	73.0±39.4	74.7±56.0	1.33	
Ba	1.59±0.31	1.99±0.32	1.23	
Cu	5.08±0.82	5.00±0.87	0.63	
Al	16.4±9.70	14.7±12.0	1.22	
Ti	0.30±0.27	0.25±0.24	2.13	<0.05
Pb	1.97±0.64	1.20±0.54	4.02	<0.01
Cu/Zn	0.13±0.10	0.10±0.08	2.76	<0.01

表 3 食管癌发病率与一些元素相关性的多元回归分析

Tab. 3 Multi-elemental regressive analysis for EC incidence rate and selected elements

回归方程	相关系数	p	参考文献
$Y(\text{组织样}) = 0.1445 + 0.225\text{Pb} - 0.3968\text{Se}$	0.4607	<0.01	本文
$Y(\text{发样}) = 1.560 + 0.011\text{As} + 6.3 \times 10^{-3}\text{Pb} - 1.637\text{Ti} - 2.930\text{Co} + 1.821\text{Cd} - 0.981\text{Se}$	0.8702	<0.05	[11]

元素之同时增补微量硒,可降低上述元素的致突变性^[14].

2.3 血样中 GSH-Px, SOD 酶活性及 MDA 含量见(表 4)

我们测定了患者红细胞中 GSH-Px 结果活性偏低,差异有非常显著意义(P<0.01),这个结果与血硒相似,说明血硒浓度会影响 GSH-Px 活性.

表 4 食管癌患者与对照组中 GSH-Px, SOD 酶活性及 MDA 含量的比较

Tab. 4 Comparison of GSH-Px, SOD activities and MDA content(x±s) between the EC patients and the control

项目	食管癌患者(n=32)	对照组(n=30)	t	p
GSH-Px(Nu/mgHb)	34.64±9.25	37.95±3.04	3.51	<0.01
Cu, Zn-SOD(Nu/mlHb)	1 243.1±105.0	1 311.9±153.4	2.07	<0.05
Mn-SOD(Nu/mlSerum)	88.5±12.5	76.4±13.4	3.68	<0.01
Cu, Zn-SOD(Nu/mlSerum)	82.5±15.6	87.3±13.0	1.31	>0.05
MDA(nmol/mlPlasma)	6.35±1.85	4.24±2.90	3.44	<0.01

注: Hb—红细胞, Nu 硝酸盐单位, Serum 血清, Plasma 血浆

GSH-Px 以 GSH 为专一底物将氢过氧化物(ROOH)还原成 ROH:

食管癌患者血中 GSH-Px 活性低,清除有害的自由基、分解过氧化物和修复分子损伤作用弱,显示硒的营养状况不佳.血球中的另一抗自由基的酶 Cu、Zn-SOD,测定其活力的结果也显示患者比对照组低($P < 0.05$).而血清中的 Mn-SOD 活力却是患者比对照组高很多($P < 0.01$), (血清的 Cu、Zn-SOD 则无明显改变).南京军区总院甚至提出血清 Mn-SOD 活性作为癌肿,特别是肝癌病人诊断指标之一. $O_2^{\cdot-}$ 、 OH^{\cdot} 等氧自由基直接或间接地损伤组织细胞和其所含的酶而致癌,食管癌患者红细胞中的 SOD 活性低,清除氧自由基能力降低, Mn-SOD 活性反而提高,原因未详,似为一种代偿性反应.

食管癌患者的 SOD、GSH-Px 等酶活性降低,细胞易受自由基的进攻,细胞膜脂质过氧化严重,改变了细胞膜的结构和功能,改变了信息的传递,以致突变癌变.为了了解脂质过氧化的程度,我们检测了脂质过氧化物的终产物 MDA,发现患者血浆中的 MDA 比对照组高($P < 0.01$).说明患者细胞损伤老化,而且 MDA 本身对细胞也有损伤.它可作为交联剂与蛋白质、核酸等含氨基化合物反应而使之失活.食管癌患者体内的硒的营养状况是否确为致癌的因素之一,患者体内硒营养状况的低下究竟是癌症结果还是其原因,还难以确定,低硒营养状况增加致癌的危险性,也尚待作深入研究.

参 考 文 献

- 1 孔祥瑞.必需微量元素的营养生理及临床意义.合肥:安徽科技出版社,1982:296
- 2 Underwood E J. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. New York: Academic Press, 1977:302
- 3 杨剑等.硒对细胞膜稳定作用的浓度依赖性.生物化学杂志,1990,6(2):141~145
- 4 赵金.微量元素硒与免疫.微量元素,1987,(1):65~68
- 5 Samberger R J et al. Selenium and heart disease ■. *Trace substances in Environmental Health-XII*. St. Louis: University of Missouri Press,1979:59~61
- 6 陈焕朝等.硒的抗癌机制的研究.生物化学杂志,1990,6(4):371~376
- 7 陈国珍等.硒的荧光分析.荧光分析法.北京:科学出版社,1990.432~433
- 8 张嘉麟等.血液中谷胱甘肽过氧化物酶活力微量测定.中华医学检验杂志,1985,8(4):199~201
- 9 Oyanagui Y. Reevaluation of assay methods and establishment of Kit for Superoxide dismutase activity. *Anal Biochem.*, 1984,142:290~296
- 10 八本国夫.过酸化脂质的测定.临床检查,1985,23(2):115~119
- 11 沈文英等.食管癌高低发区人发中微量元素含量研究.厦门大学学报(自然科学版),1992,31(6):701~704
- 12 Broghamer W L et al. Relationship between serum selenium levels and patients with carcinoma. *Cancer.*, 1976, 37:1 384~1 386
- 13 陈清等.微量元素与健康.北京:北京大学出版社,1989:113
- 14 Hafeman D G. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J. Nutr.*, 1974, 104:508~584

Appraisal of Selenium-nutritional Status in Patients with Esophageal Cancer

Shen Wenying

Yang Yiping Hu Minghui

(Medical College, Shantou Univ.)

(Subtropical Institute of Oceanog., Xiamen Univ.)

Abstract The contents of anticancer elements (Se, Zn, Cu), carcinogenic elements (As, Ni, Cd), MDA and activities of enzymes (GSH-Px and SOD) were determined in samples of hairs, bloods and cancerous tissues of patient with esophageal carcinoma and in samples of blood of comparison (normal adult). The comprehensive efficient ratios of carcinogenic vs. anticancer elements were calculated. These values were used as biochemical indices to appraise Se-nutritional status in patients. The results show that there are differences with obvious significance ($P < 0.05 \sim 0.01$) between EC-patients and control. It suggested that Se-nutritional status of EC-patients are bad, may be one of carcinogenic danger factors to EC-patients.

Key words Esophageal carcinoma, Selenium-nutritional status, Superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GSH-Px), Malondialdehyde (MDA)

www.cnki.net