


YANGHUA YINGJI
YU DONGMAI ZHOUYANG YINGHUA

氧化应激与 动脉粥样硬化

边云飞/著



 军事医学科学出版社

氧化应激与动脉粥样硬化

边云飞 著

军事医学科学出版社

· 北 京 ·

内 容 提 要

动脉粥样硬化是一种复杂的、多因素疾病,其发病的分子和细胞机制至今尚不明确。近年大量研究发现,氧化应激与动脉粥样硬化的发病密切相关。氧化应激是指机体在内外环境有害刺激的条件下,体内产生活性氧自由基和活性氮自由基所引起的细胞和组织的生理和病理反应。本书首先从氧化应激的基本概念、体内活性氧的生成途径及检测方法、体内抗氧化系统、氧化应激的调节作用等方面对氧化应激过程进行了全面系统的介绍,进而详细介绍了氧化应激以及内质网应激在动脉粥样硬化发病的分子学机制中的重要作用,以及动脉粥样硬化的抗氧化治疗,并结合此研究领域的最新进展,为氧化应激与动脉粥样硬化的临床及科研工作开拓了新的思路。

图书在版编目(CIP)数据

氧化应激与动脉粥样硬化/边云飞著.

-北京:军事医学科学出版社,2011.8

ISBN 978-7-80245-745-4

I. ①氧… II. ①边… III. ①动脉粥样硬化-研究
IV. ①R543.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 072650 号

出 版:军事医学科学出版社

地 址:北京市海淀区太平路 27 号

邮 编:100850

联系电话:发行部:(010)66931051,66931049,63827166

编辑部:(010)66931039,66931127,66931038

86702759,86703183

传 真:(010)63801284

网 址:<http://www.mmsp.cn>

印 装:中煤涿州制图印刷厂北京分厂

发 行:新华书店

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:16(彩5)

字 数:390千字

版 次:2012年2月第1版

印 次:2012年2月第1次

定 价:69.00元

前言

随着医学的进步、社会经济的发展,人类疾病发生了流行病学转变,心血管疾病在世界范围内流行,并已成为人类死亡的首要原因,而动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是主要的病理基础。

近几十年来,信号转导和基因调控水平的研究表明,氧化应激是动脉粥样硬化发生的关键因素,是从脂质条纹形成到斑块破裂和血栓形成这一动脉粥样硬化发展过程的主要诱因。同时,一种更合理的、将脂质氧化和炎症与动脉粥样硬化联系起来的“氧化假说”理论认为,动脉粥样硬化是血管壁中低密度脂蛋白(LDL)被活性氧(ROS)氧化修饰的结果。动脉粥样硬化发生的危险因素,如糖尿病、高血压、高血脂、肥胖及吸烟等都会诱导 ROS 的过量产生。

目前,尽管氧化应激学说已成为动脉粥样硬化研究的热点之一,其正以“基础研究—临床应用”的转化医学模式发展,并不断拓宽动脉粥样硬化防治的新领域。然而,多数心血管病学者对该学科的研究进展仍较生疏,尤其对动脉粥样硬化相关的氧化应激基础理论认识不足。

鉴于此,笔者结合多年来从事心血管疾病科研和临床实践的体会,对该领域国内外的新进展、新理论、新成果、新技术进行系统整理和归纳,撰写了本书。本书首先从氧化应激的基本概念、体内活性氧的生成途径及检测方法、体内抗氧化系统、氧化应激的调节作用等方面对氧化应激过程进行了全面系统的介绍,进而详细介绍了氧化应激以及内质网应激在动脉粥样硬化发病机制中的重要作用,并结合此研究领域的最新进展,为

氧化应激与动脉粥样硬化的临床及科研工作开拓了新思路。

本书乃国内外首部关于动脉粥样硬化氧化应激学说的专著,如果本书能够对此研究领域和临床医师的科学研究与临床实践有一定帮助,我们将深感欣慰。由于心血管病学的基础与临床研究进展迅速,加之编者水平所限,纰漏之处在所难免,恳请各位同仁及读者不吝赐教。

山西医科大学第二医院心内科

边云飞

2011年4月

目 录

第一章 概论	(1)
第一节 氧化应激学说概述	(1)
一、氧化应激学说概念	(1)
二、体内自由基的种类及产生	(2)
三、活性氧的种类及来源	(3)
第二节 氧化应激的生理及病理作用	(4)
一、氧化应激的生理作用	(5)
二、氧化应激的病理作用	(6)
第三节 氧化应激与心血管疾病	(10)
一、氧化应激与动脉粥样硬化	(10)
二、氧化应激与缺血再灌注损伤	(11)
三、氧化应激与高血压	(12)
四、氧化应激与心力衰竭	(12)
五、氧化应激与心律失常(arrhythmia)	(13)
六、氧化应激与心脏瓣膜性疾病	(14)
第二章 体内活性氧的生成途径及检测方法	(18)
第一节 体内活性氧的生成途径	(19)
一、NADPH 氧化酶	(19)
二、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)	(21)
三、金属离子	(22)
四、一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)	(23)
五、细胞色素 p450	(25)
六、线粒体呼吸链及电子传递系统	(28)
七、氧化酶	(30)

第二节 氧自由基的检测	(31)
一、电子自旋共振	(31)
二、化学发光法	(32)
三、化学比色法	(32)
四、荧光法	(33)
五、气相色谱法	(34)
六、高效液相色谱法	(34)
第三章 氧自由基的病理作用及抗氧化系统	(37)
第一节 氧自由基的病理作用	(37)
一、自由基对脂质和细胞膜的破坏	(37)
二、自由基对蛋白质和酶的伤害	(39)
三、自由基对核酸和染色体的破坏	(41)
四、氧自由基过多引起的病理变化	(42)
第二节 体内抗氧化防御系统	(44)
一、抗氧化剂的基本概念	(44)
二、抗氧化防御修复系统	(44)
第四章 氧化应激的调节作用	(55)
第一节 氧化应激在发育和分化过程中的作用	(55)
一、氧化应激与胚胎发育	(55)
二、氧化应激与细胞增殖	(58)
三、氧化应激与细胞分化	(59)
第二节 氧化应激与细胞凋亡	(61)
一、细胞凋亡的概念和过程	(61)
二、氧化应激诱导细胞凋亡	(63)
三、细胞凋亡调控机制	(65)
四、氧化应激诱导细胞凋亡的相关基因	(72)
五、氧化应激诱导的细胞凋亡与相关疾病	(83)
第三节 氧化应激与基因调控	(86)
一、氧化应激与基因表达	(86)
二、氧化应激调节基因表达及相关信号转导	(88)
三、一氧化氮(NO)与基因表达	(96)
四、自由基介导基因表达与疾病的关系	(99)
第四节 氧化应激相关基因多态性研究	(101)

一、心血管疾病	(101)
二、2 型糖尿病	(104)
三、慢性阻塞性肺疾病	(106)
第五章 氧化应激与动脉粥样硬化	(115)
第一节 动脉粥样硬化生成的假说	(115)
一、渗入假说(infiltrative hypothesis)	(115)
二、镶饰假说(encrustation hypothesis)或血栓源假说(thrombogenic hypothesis)	(115)
三、炎症学说	(120)
四、脂源性学说	(122)
五、氧化应激学说	(123)
六、受体缺失学说	(123)
七、细胞因子学说	(123)
八、病毒学说	(124)
第二节 氧化应激在动脉粥样硬化发病机制中的病理生理作用	(125)
一、氧化应激中氧化剂的来源及其与 AS 的关系	(125)
二、氧化应激在动脉粥样硬化发病机制中的作用	(128)
三、氧化修饰的脂质在动脉粥样硬化发病中的意义	(140)
四、尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶与动脉粥样硬化	(158)
五、心脏氧化损伤的表现与检测	(167)
第三节 氧化应激产生的 ROS 在细胞信号转导中的致动脉粥样硬化作用	(168)
一、ROS 对蛋白质磷酸化的调节作用	(168)
二、ROS 对转录因子活性的调节作用	(169)
三、Ca ²⁺ 信号转导	(170)
四、蛋白激酶 B(Akt) 信号通路	(170)
五、蛋白酪氨酸激酶信号通路	(170)
六、NF-κB 与氧化应激	(171)
第四节 抗氧化剂在 LDL 氧化修饰和 AS 发生发展中的作用	(171)
一、NADH/NADPH 氧化酶抑制剂	(172)
二、脂溶性抗氧化剂	(172)
三、抗氧化酶	(172)
四、髓过氧化物酶抑制剂	(173)
五、黄嘌呤氧化酶抑制剂	(173)
六、NO 供体药物	(173)
七、过氧化物酶体增殖物激活受体激动剂	(174)

八、维生素及其相关化合物	(174)
九、小分子抗氧化剂	(174)
十、植物性抗氧化剂	(175)
十一、动物性抗氧化药物	(177)
十二、饮食	(178)
十三、抗氧化剂能预防并减低心脏病发病的危险性	(178)
第五节 常用抗氧化药物的基础及临床研究	(179)
一、维生素和微量元素	(179)
二、血管紧张素转化酶抑制剂及血管紧张素转化酶受体1(AT ₁ R)拮抗剂	(179)
三、他汀类药物	(179)
四、普罗布考和 AGI-1067(succinobucol)	(180)
五、噻唑烷二酮类药物	(181)
六、展望	(181)
第六章 内质网应激与动脉粥样硬化	(197)
第一节 内质网的结构与功能	(197)
一、内质网的发现	(197)
二、内质网的结构	(197)
三、内质网的功能	(198)
四、内质网的病变	(201)
第二节 内质网应激	(202)
一、内质网应激的概念	(202)
二、内质网应激的刺激因素	(202)
三、内质网应激的信号通路	(202)
四、UPR 通路	(204)
五、内质网超负荷反应	(205)
六、固醇调节级联反应	(205)
七、内质网应激的分子生物学基础	(205)
第三节 内质网应激与动脉粥样硬化	(207)
一、概述	(207)
二、内质网应激与动脉粥样硬化的发病机制	(208)
三、内质网应激与动脉粥样硬化的治疗	(215)
第七章 氧化应激与动脉粥样硬化研究新进展	(221)
第一节 巨噬细胞氧化应激与动脉粥样硬化	(221)

一、单核-巨噬细胞在 AS 形成过程中的重要作用	(221)
二、巨噬细胞氧化应激与 AS	(222)
三、信号转化通路	(225)
第二节 内皮细胞氧化应激与动脉粥样硬化	(227)
一、血管内皮细胞与 AS	(227)
二、血管内皮细胞氧化应激与 AS	(227)
第三节 平滑肌细胞氧化应激与动脉粥样硬化	(229)
一、平滑肌细胞与 AS	(229)
二、平滑肌细胞氧化应激与 AS	(230)
三、ROS 促进血管平滑肌细胞增殖的信号转导机制	(232)

第一章 概论

第一节 氧化应激学说概述

一、氧化应激学说概念

氧化应激(oxidative stress)是指机体或细胞内氧自由基的产生与清除失衡,导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)在体内或细胞内蓄积而引起的氧化损伤过程(图 1-1)。

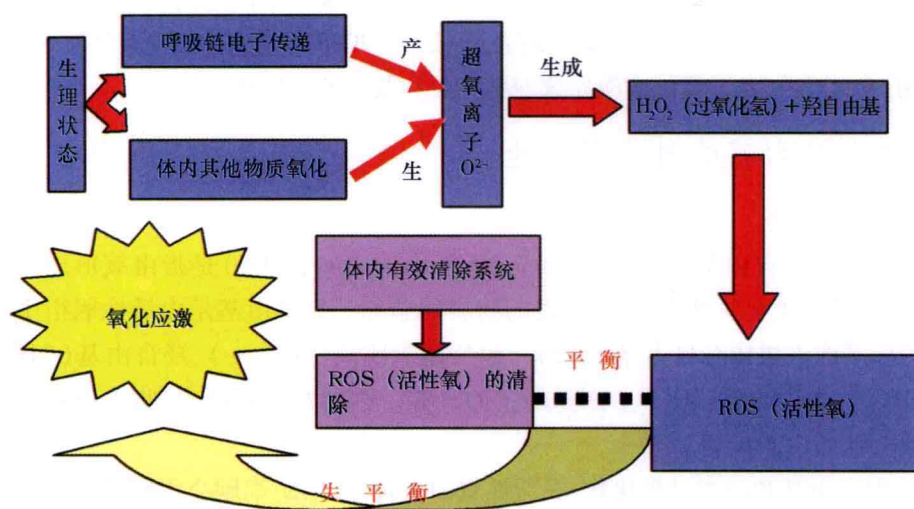


图 1-1 氧化应激的形成

氧化应激的概念最早源于人类对衰老的认识。1956年,美国学者哈曼在一篇重要论文中指出,衰老与体内氧自由基的产生和抗氧化防御与修复的失衡有关。在此后半个世纪的时间里,包括9位诺贝尔奖得主在内的科研工作者们在此领域不断探索,最终形成、拓展了氧化应激理论。

从1985年开始,德国科学家Sies第一次提出了“氧化应激”的概念,并在1991年对“氧化应激”进行了定义。氧化应激是指机体氧化活性物质产生过多和(或)机体抗氧化能力减弱,ROS清除不足,导致ROS在体内增多,破坏机体氧化/还原的正常平衡,并引起细胞氧化损伤的病理过程。2002年,Nature Medicine杂志出版了有史以来的第四期专刊:动脉粥样硬化专刊,这期的第一篇文章是脂质氧化学说的奠基人——美国心血管专家丹尼·斯坦伯

(Daniel Steinberg) 教授的回顾,在文章中,他形象比较了原型 LDL(即正常或天然的 LDL)和 Ox-LDL 对巨噬细胞的不同作用。

2003 年,诺贝尔奖得主 Aaron Ciechanover 在《FASEB 杂志》上发表了氧化应激和冠状动脉粥样硬化之间的关系和相应的标志物;另一诺贝尔奖得主 Ferid Murad 在《生理化学》发表了关于线粒体内高活性粒子对蛋白质破坏的研究成果,进一步验证了氧化应激可导致糖尿病慢性心脏病变;美籍华人科学家朱作霖博士首次提出“氧化应激窗口期理论”,重新定义了“氧化应激”的概念。氧化应激存在窗口期,即从氧化应激高于正常水平到临界致病水平之间有一个时间段。只要在此时间段内,通过药物或其他方法对氧化应激水平进行调节,使氧化应激始终远离临界致病水平,从而可达到预防疾病的目的,这个时间段就是“氧化应激窗口期”。大量的科学研究已经初步证实,生命体内分子水平的氧化还原平衡被打破是造成绝大多数疾病和机体老化的根本原因,如常见的心脑血管疾病、癌症、糖尿病、皮肤病等。非平衡状态下,构成生命体的四大基础有机物质,DNA、蛋白质、脂质和糖类,受到了体内高活性粒子(包括各种自由基)的破坏而导致变性,被破坏的程度就叫氧化应激。氧化应激存在三个水平:正常水平、亚健康水平和临界致病水平。2006 年,诺贝尔奖得主 H. Robert Horvitz 在《细胞杂志》(*Cell*)发表了关于氧化应激和寿命之间关系的研究成果,再次陈述了减少高活性粒子对机体的破坏有益于长寿。2008 年 9 月,德国科学家 Seiler 等在《细胞代谢》杂志上发表了氧化应激导致细胞坏死和凋亡的反应机制。

二、体内自由基的种类及产生

1. 自由基的种类

(1) 活性氧及氧自由基:活性氧(reactive oxygen species, ROS)是指由氧形成并在分子组成上具有氧的一类化学性质、非常活泼的物质的总称。氧自由基是由活性氧衍生而来的一类自由基,其约占机体总自由基的 95%,包括超氧阴离子($O_2^{\cdot -}$)、羟自由基(OH^{\cdot})、过氧化氢(H_2O_2)、单线态氧(1O_2)、三线态氧(3O_2)等。它们对细胞膜、脂肪组织和蛋白质都会产生影响,从而引起疾病。

(2) 脂类自由基和脂类过氧化物:在活性氧的作用下,组织细胞会因脂质过氧化而产生脂类自由基,如脂自由基(L^{\cdot})、烷自由基(R^{\cdot})、脂氧基(LO^{\cdot})、烷过氧基(ROO^{\cdot})、脂氢过氧化物($LOOH$)等。它们的性质稳定且寿命长,可发生连锁反应,造成更严重的损伤。生物和理化因素也可引起脂质过氧化,其反应过程及产物脂质过氧化物(lipid peroxidation, LPO)对机体都有严重的损害。

(3) 半醌类自由基:通常是指磺素类蛋白、辅酶 Q(泛醌)的单电子还原形式或氧化形式。它们一般由苯醌和苯酚类化合物发生氧化还原反应而产生,且广泛产生于许多生命过程之中。这两类化合物在电子传导中起特殊作用,此类自由基还是线粒体中执行功能的主要自由基。

2. 自由基的产生 自由基的形成主要有共价键均裂法和电子俘获法两种方式。前者是指共价化合物均裂时共用的电子对被双方平均获得,所形成的产物即为自由基,如 $A:B \rightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot}$ 。后者是指带有成对电子的有机化合物或无机化合物俘获了一个电子,就可因带

有不成对电子而成为自由基,如 $O_2 + e \rightarrow O_2^{\cdot -}$ 。体内活性物质代谢异常时也可产生自由基,如细胞硫醇和对苯二酚等发生自氧化或蛋白酶等的催化反应都可引起自由基水平升高。

三、活性氧的种类及来源

活性氧(ROS)是指氧的某些代谢产物和一些反应的含氧产物,其特点是含有氧,化学性质较氧(基态氧)活泼。活性氧中的一些是自由基,其不配对的电子位于氧,称氧自由基;另一些则是非自由基的含氧化物,非自由基的活性氧的特点是在自由基反应中产生,同时还可以直接或间接地触发自由基反应。研究表明,多种 ROS 在血管病理生理过程起重要作用。生物体的氧化应激(oxidative stress)状态常与自由基增加相伴存在,氧化应激引起的氧化损伤反应常由自由基介导发生。它不仅包括氧自由基如超氧阴离子($O_2^{\cdot -}$)、羟自由基(OH^{\cdot})、过氧化氢(H_2O_2)、一氧化氮(NO^{\cdot}),也包括一些阴离子氧的非自由基衍生物,如单线态氧(1O_2)、氢过氧化物(HOO^{\cdot})、过氧化物次氯酸($HOCl^{\cdot}$)、过氧化物脂质(LOO^{\cdot})。机体内自由基防御系统有两类:一是酶促防御系统,由多种蛋白组成,这些“直接”抗氧化物包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等;另一类是非酶促防御系统,包括维生素 C(VitC)、维生素 E(VitE)、谷胱甘肽(GSH)、 α -硫辛酸(LA)、褪黑素(MLT)等,它们对清除自由基、保护细胞及机体起重要作用,它们能够使机体细胞维持氧化还原自稳态。细胞内 ROS 的来源多种多样,除线粒体呼吸链代谢产生外,NADPH 氧化酶、一氧化氮合酶、环氧合酶、脂氧合酶(lipoxygenase, LO)、细胞色素 p450 单氧酶和黄嘌呤氧化酶所催化的反应均伴有 ROS 的生成。AS 发生的危险因子,如糖尿病、高血压、高血脂、肥胖、高同型半胱氨酸血症及吸烟等,都存在 ROS 的过量产生或诱导 ROS 生成。

AS 主要是血管性病变,血管壁细胞生成 ROS 酶包括 NADPH 氧化酶家族、黄嘌呤氧化酶和 NO 合酶,以及线粒体氧化反应时漏出的 ROS。在血管细胞中最重要的 ROS 是超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot -}$),其由单价还原氧生成。 $O_2^{\cdot -}$ 对血管本身无作用,主要由它生成其他 ROS,如超氧化物歧化酶歧化 $O_2^{\cdot -}$ 生成较稳定的 $ROSH_2O_2$, H_2O_2 能与还原性过度金属反应生成高活性的羟自由基(OH^{\cdot})。

最初血管壁 ROS 被认为来自线粒体,是有氧呼吸过程中不可避免的副产物,随后研究显示,NADPH 氧化酶和黄嘌呤氧化酶可能起主要作用。直到 20 世纪 90 年代,检测技术的发展使人们能够对血管壁以及血管细胞 NADPH 氧化酶进行直接测定,才最终确定 HADPH 氧化酶是血管系统 ROS 的主要来源。

NADPH 氧化酶是一种多亚单位酶复合体(图 1-2),是细胞中一种可诱发的电子传递系统,可将电子从 NADPH 传递给 O_2 而生成 $O_2^{\cdot -}$ (图 1-3),研究表明 NADPH 氧化酶是 ROS 的主要来源,Warnholtz 等用高脂饮食饲养兔子,观察血管 ROS 的产生,发现用 NADPH 氧化酶抑制剂二甲苯基碘(dephenylene iodonium, DPI)可明显减少 ROS 的产生,而用其他氧化酶抑制剂如黄嘌呤氧化酶 oxypurinol、线粒体电子传递链抑制剂 rotenone 或一氧化氮合酶抑制剂 NG-monomethyl-L-arginine 却不能减少 ROS 的产生。相反,当加入底物 NADH 或 NADPH 时,ROS 可明显增加,而加入其他氧化酶时,ROS 并不增加。该结果提示 NADPH 氧化酶

是血管产生 ROS 的主要酶体。

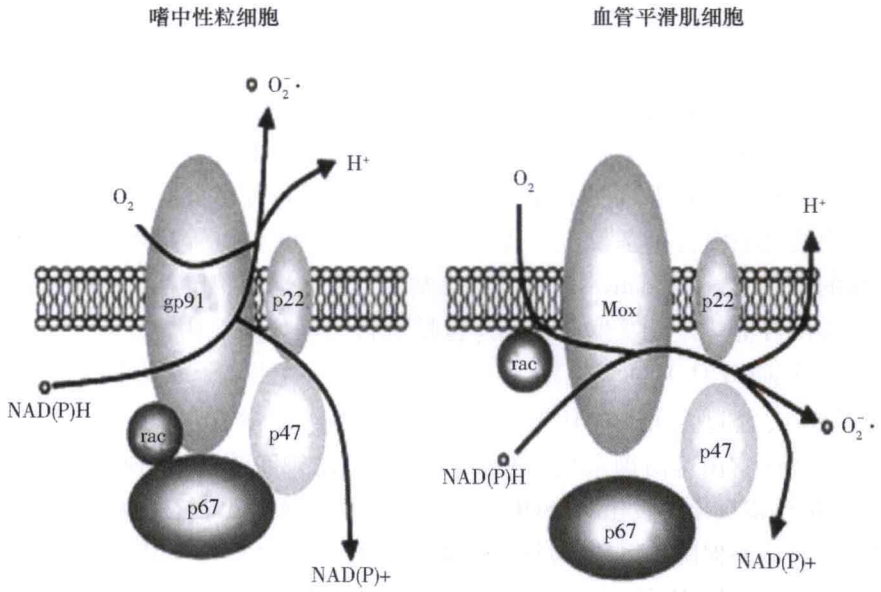


图 1-2 NADPH 氧化酶的结构

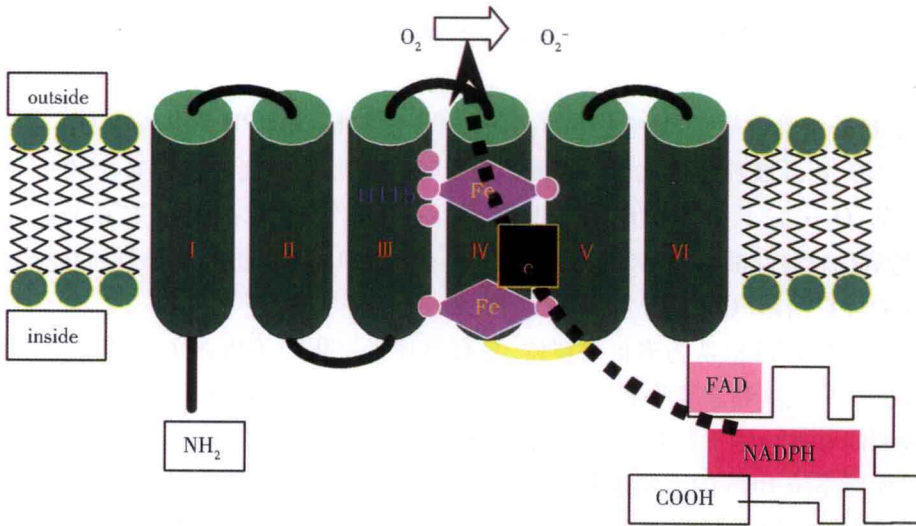


图 1-3 NADPH 氧化酶产生超氧阴离子的过程

第二节 氧化应激的生理及病理作用

人体内氧自由基最初是被作为损伤因子认识的,近来研究表明,包括 NO、H₂O₂、超氧阴

离子等的 ROS 是细胞内信号级联反应中的(病理)生理性调节介质,在细胞功能方面具有精细调节作用。首先,ROS 可以调节许多细胞内分子和信号通路的活性,这主要是通过对宿主免疫应答、增殖、基因转录和蛋白质活性调节来实现的,通常被称为“氧化还原信号传导”。它通过调节细胞内各种信号,诱发级联反应,导致一些特异性蛋白和酶功能的改变,最终影响核内转录活性,影响基因的转录和表达。其效应包括激活基质金属蛋白酶、促进黏附分子和细胞因子的表达、刺激血管平滑肌增生和迁移等;其次,ROS 还能与一氧化氮(nitric oxide, NO)快速作用,导致 NO 生物活性降低,并产生另外一种 ROS 过氧亚硝酸盐($\text{ONOO}^- \cdot$),从而放大氧化应激效应。但是 ROS 作为新陈代谢的副产物通常被认为是有害的,它们可以与细胞膜、DNA、大分子物质及蛋白质相作用,从而在某些病理生理过程中发挥重要作用。因此,ROS 是双刃剑,一方面是调节血管系统结构和功能状态的重要信号分子,另一方面也是氧化应激过程中的有害物质。

一、氧化应激的生理作用

在生理情况下,自由基为机体正常物质代谢的组成部分,是维持多种重要生理功能的物质基础。常见的自由基的生理功能如下。

1. 防御作用 自由基在吞噬细胞杀灭、清除病原微生物的过程中有重要作用。中性粒细胞在吞噬病原体的过程中通过多条反应途径,产生活性氧簇来杀灭病原体。如中性粒细胞髓过氧化物酶可使 H_2O_2 和 Cl^- 反应产生次氯酸(ClO^-),再与 H_2O_2 反应生成 $\text{O}_2^- \cdot$ (反应过程见前面叙述), $\text{O}_2^- \cdot$ 是杀菌的主要成分;中性粒细胞在吞噬微生物的过程中发生呼吸爆发,呼吸爆发时,粒细胞的 NAD(P)H 氧化酶使 NAD(P)H 提供电子给 O_2 形成大量 $\text{O}_2^- \cdot$,继而形成 H_2O_2 、 $\text{OH} \cdot$ 和 $\text{O}_2 \cdot^-$,杀灭吞噬的细菌;NAD(P)H 氧化酶以跨膜方式存在于细胞膜上,产生 $\text{O}_2^- \cdot$ 的功能部位位于细胞膜外,而接受电子的功能部位位于细胞膜内,当细菌被吞噬细胞膜内凹形成吞噬小体时,细胞膜外层成为吞噬小体的内层,而原来的细胞膜内层成为吞噬小体的外层,这样产生的 $\text{O}_2^- \cdot$ 将全部释放在吞噬小体内,在局部形成高浓度的活性氧簇,有利于杀灭细菌,同时也避免了活性氧簇外漏伤及细胞其他亚显微结构。

2. 杀伤癌细胞的作用 体内多种免疫细胞具有杀伤癌细胞的作用,其机制与活性氧簇有关。如自然杀伤细胞(NK 细胞)是机体免疫监视的第一线,其与肿瘤细胞共同孵育可引起癌细胞崩解,如加入 SOD,可降低这种崩解,提示此杀伤癌细胞的作用与 $\text{O}_2^- \cdot$ 有关;粒细胞也有类似的通过活性氧簇杀伤癌细胞的作用;巨噬细胞受到佛波酯(PMA)刺激后释放大量的 H_2O_2 ,同时癌细胞发生崩解。

3. 解毒作用 有毒化学物质在肝细胞光面内质网上细胞色素 p450 的作用下,与 NADPH 和 O_2 相互作用,氧被激活,氧原子插入有毒化学物质的分子内,使其发生羟化,从而降低了毒性、增加了极性,易于随胆汁、尿液排出体外。

4. 参与激素合成 甲状腺滤泡内甲状腺激素的合成与活性氧簇有关。被主动运入甲状腺的碘离子(I^-)不能碘化甲状腺球蛋白(Tg)的酪氨酸,需在甲状腺滤泡上皮细胞的顶部(滤泡腔面)由其线粒体提供 H_2O_2 ,并在细胞膜上的甲状腺过氧化物酶(TPO)的催化

下, I⁻ 被氧化而形成活性碘(有学者认为活性碘是一种自由基), 使滤泡腔内的 Tg 上的酪氨酸碘化而形成一碘酪氨酸(MIT) 和二碘酪氨酸(DIT) (两者为无生物活性的甲状腺激素前体), 此为以后在 Tg 上 DIT 偶联成甲状腺激素(T₄、T₃) 的基础。促甲状腺激素(TSH) 可通过刺激甲状腺滤泡上皮细胞线粒体 H₂O₂ 的产生, 提高 Tg 上酪氨酸的碘化反应而增加甲状腺激素的产量。

5. 参与氧化还原信号系统 NADPH 氧化酶是活性氧族的极其重要的来源。NADPH 氧化酶的 7 种同工酶, 又被称为 Noxs(NAPDH oxidases), 呈细胞特异性和组织特异性表达。这些氧化酶被认为与许多功能有关, 这是因为它们的激活被严格调控(如被神经激素、生长因子及机械性刺激激活), 且与不同的下游信号通路特异性偶联。

二、氧化应激的病理作用

1. 对生物膜的损伤 细胞中细胞膜、线粒体、内质网、溶酶体膜、核膜等在内的多种膜系统结构统称为生物膜。生物膜不仅为细胞构筑生存空间, 而且也是细胞从事物质转运、能量转换、信息传递与识别等基本生命活动的结构基础, 其都是双磷脂分子层及膜蛋白结构, 极易受 ROS 的攻击而受到损伤。ROS 引发的脂质过氧化作用可造成生物膜中饱和与不饱和脂肪酸的比例失衡, 改变生物膜结构的刚柔特性, 增加生物膜的通透性, 甚至发生崩解。这些变化将使生物膜丧失调节细胞内物质浓度的生理功能。生物膜的刚柔特性的变化, 也会影响到生物膜中蛋白质的正常流动与缔合, 使生物膜的物质转运、能量转换、信息识别等方面的能力降低。生物膜的脂质过氧化作用及其脂类过氧化产物, 也会波及生物膜中的蛋白质, 造成生物膜蛋白的氧化损伤、生物膜功能的紊乱, 可导致细胞凋亡。

2. 对蛋白质的氧化损伤 ROS 对机体的氧化损伤是共同的损伤, 除脂类外, DNA、蛋白质也都有氧化损伤的危险。氨基酸 His、Pro、Trp、Cys 和 Tyr 等都是自由基敏感型受体, ROS 可与邻近的氨基酸反应, 直接作用于蛋白质, 使之发生过氧化, 也可通过脂性过氧化物间接作用于蛋白, 使正常蛋白的活性增强或减弱, 其机制是 ROS 可直接介导多肽链的氧化断裂、蛋白质侧链氨基酸的氧化修饰、蛋白质羰基化, 以及蛋白质-蛋白质交联; 同时 ROS 也可以通过脂质过氧化和非酶糖基化过程生成活性羰基类物质介导蛋白质羰基化和蛋白质交联。蛋白质发生氧化损伤后, 将失去原有的生理功能, 如果不及时修复和清理, 将造成“生物垃圾”的堆积, 损伤细胞、组织机体的功能; 过度氧化和交联的蛋白质具有抗蛋白水解的活性, 从而在细胞内堆积, 并进一步发生聚合和交联, 最终导致细胞凋亡。

3. 破坏核酸结构 氧自由基对核酸的毒性作用包括染色体畸变、碱基突变、DNA 断裂等, DNA 损伤可改变细胞的生物学活性, 甚至引起心肌细胞、血管内皮细胞坏死或凋亡。研究表明, 自由基对 DNA 分子的攻击, 可以分为 DNA 分子的碱基修饰、DNA 单/双链的断裂等。自由基中极为活泼的单电子, 容易与亲核性的 DNA 分子结合, 导致 DNA 碱基的修饰改变。特别是鸟嘌呤 C8 位的氧化(8-OHdG) 是最多见的。DNA 链中 8-OHdG 的存在, 可以引起 DNA 复制时碱基的错误配对及编码, 导致基因突变。虽然这些损伤可被 DNA 修复系统修复, 但在心肌存在损伤因素时, 氧化应激可造成心肌细胞永久性损伤。另一方面, 活性氧自由基中的 OH· 和 O₂⁻ 等可以引起 DNA 链断裂, 断裂的 DNA 链必须不断修复, 参与 DNA

修复的酶也同时受到自由基的攻击而影响其功能的发挥,故修复过程可能会出现编码错误,导致基因突变。

DNA 是生命信息的载体,是细胞中最重要的生物大分子之一。DNA 分子中的碱基、核糖和磷酸二酯键都可能遭受自由基的攻击,造成碱基与核糖氧化、链断裂、蛋白交联等多种类型的损伤。ROS 可以与碱基发生加成反应,形成异化的自由基,破坏碱基之间的氢键和层堆积力; $\cdot\text{OH}$ 和 $\cdot\text{H}$ 通过加成反应造成 DNA 链中嘧啶和嘌呤碱基的损伤,嘧啶环的加成反应主要发生在 C5、C6 的双键上,嘌呤环的加成反应主要发生在咪唑杂环上的 7、8 位双键上,经进一步反应最终使环破裂,它的损伤会导致 DNA 立体构象的改变,改变 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶等酶的可识别性,产生严重后果。活性氧还可以从 DNA 链上的戊糖上夺走氢原子,使之在 C4 位上形成自由基,然后,该自由基再在 β 位断链,直接破坏 DNA 链。活性氧无论作用于碱基或戊糖,均可引起 DNA 分子的氢键断裂,使 DNA 分子降解,其对 DNA 的作用后果主要有 3 类:即单、双链断裂,无嘌呤无嘧啶位点和产生环胞嘧啶衍生物。

4. 攻击含巯基的氨基酸 含巯基的氨基酸极易受 ROS 攻击,使蛋白质变性、膜蛋白泵及载体功能丧失、酶及辅酶失活;使胶原及透明质酸崩解,导致离子转运、能量代谢、离子及代谢物梯度的维持、受体介导的信号转导等多方面的变化。大量研究已经证实,ROS 可使细胞质膜、内质网膜、线粒体膜上的 Ca^{2+} -ATP 酶活性降低,使细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,触发细胞内钙超载。ROS 也可以抑制心肌细胞膜上 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶活力,使细胞内 Na^{+} 堆积、 K^{+} 丢失。细胞内 Na^{+} 浓度升高,进而激活质膜上 $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ 交换蛋白,加重 Ca^{2+} 超载。研究表明,ROS 可通过对 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶本身直接的损伤及对 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶所处微环境的改变,导致 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶的活力下降。氧自由基可造成蛋白质交联、肽链断裂、氨基酸残基转化及电荷变化,并引起蛋白质构象改变,从而导致蛋白质变性、功能丧失,酶和具有细胞信号转导作用的受体功能异常,从而带来一系列细胞功能和代谢紊乱。

5. 损伤线粒体,破坏细胞功能机构 ROS 对线粒体的损伤主要表现为线粒体脂质的氧化、线粒体 DNA(mtDNA)拷贝数的减少、线粒体 RNA(mtRNA)转录的降低,以及由于复合体酶活性降低导致的氧化能力下降、线粒体膜完整性的损伤。因为 mtDNA 接近线粒体呼吸链,缺乏类似核染色质结构的保护,且对 DNA 损伤的修复能力差,所以在高浓度 ROS 作用时,mtDNA 成为损伤的主要靶点。心力衰竭心肌中复合体 I 酶活性的下降可能由于编码其 7 个亚基的 mtDNA 损伤所致。线粒体过量产生的 ROS 可以导致线粒体膜通透性增加,在缺血-再灌注损伤中,ROS 是诱导 mPTP 开放的关键因子,mPTP 开放使线粒体氧化磷酸化脱偶联,ATP 合成停止,并进一步促进 ROS 产生增加。此外,ROS 也可以触发线粒体内膜阴离子通道的开放,通过“ROS 诱导的 ROS 释放”引起更多 ROS 的产生,从而加剧心力衰竭中 ROS 引起的损伤。

ROS 如超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\text{OH}\cdot$)、过氧化氢(H_2O_2)和单线态氧都是正常有氧代谢的副产物。在所有真核细胞中有超过 90% 的氧是通过线粒体消耗的,其中 2% 的氧在线粒体中被转化成氧自由基,这是细胞内氧自由基的主要来源。正常生理条件下,锰超氧化物歧化酶(Mn superoxide dismutase, MnSOD)在线粒体基质中可以将 80% 的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 转化成 H_2O ,其余的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 通过线粒体膜进入细胞浆,被 MnZnSOD 清除。当 SOD 的活