

· 综述 ·

氧化/抗氧化失衡与高氧肺损伤

潘丽 综述,富建华,薛辛东 审校

(中国医科大学附属盛京医院儿科,辽宁 沈阳 110004)

[中图分类号] R725.6 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)03-0237-03

氧气是人类生存所不可或缺的,从外界吸入的氧气在机体内主要以氧自由基及其他活性氧形式存在,参与正常代谢和执行生理功能。而当自由基产生过多或(和)清除减少时,活性氧蓄积产生氧毒性,损伤组织细胞,可引起多种疾病。

肺组织直接与吸入的氧气和外源性的氧化物接触,是对氧毒性最敏感的器官之一。当患有严重疾病的患者需要吸入高浓度的氧气(高氧)进行氧疗时,无疑更是加重了肺组织的氧化负担,可引发一系列急慢性肺损伤,这种损伤在早产儿主要表现为支气管肺发育不良(bronchopulmonary dysplasia, BPD)。

1 机体内的氧化和抗氧化系统

氧毒性主要由活性氧介导。活性氧即反应性氧类(reactive oxygen species, ROS),是活泼的氧自由基和具有氧自由基反应性的其他含氧物质的总称。主要包括:超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($OH^{\cdot}$)等氧自由基和非自由基的单线态氧(1O_2)、过氧化氢(H_2O_2)等活泼的含氧物质。

传统的抗氧化剂可分为低分子自由基清除剂和酶类清除剂(antioxidant enzymes, AOE)两大类。近年来的研究将具有抑制 ROS 及其他自由基生成、维持细胞氧化还原状态、修复细胞氧化损伤的物质,包括一些转录因子、信号通路蛋白以及通过产生其他抗氧化剂而发挥抗氧化作用的“二线抗氧化剂”等,都统称为抗氧化剂,如血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)、富含半胱氨酸 l-cys 的 Prx(l-cys peroxiredoxin, CP),以及编码转录因子 NF-E2 相关因子 2(NRF2)的 Nr2,及其编码的酶类如羧酸酯酶、醛氧化酶-1、醛脱氢酶等。

当体内的氧化和抗氧化能力不能达到平衡时,

蓄积的 ROS 通过改变细胞的氧化还原状态,干扰其正常的生理功能,损伤细胞的各种成分等,参与很多疾病的发生^[1]。

2 ROS 与 BPD

2.1 ROS 产生过多与 BPD

ROS 在早产儿 BPD 病理过程中的作用,已经得到了许多基础和临床实验的证实,尤其是出生后头几天内血浆、气道灌洗液以及呼出气体中蛋白和脂质过氧化物水平的升高与后来发展成 BPD 相关性的研究表明,早期阶段 ROS 对肺组织的损伤,是最终导致 BPD 的重要原因。在引起组织损伤的 ROS 中,目前尚不清楚究竟哪(几)个 ROS 是 BPD 主要的损伤因子,但 Outten 等^[2]推测在高氧引起的细胞损伤中, $O_2^{\cdot-}$ 可能是最主要的损伤因子, H_2O_2 次之。

ROS 在肺组织内可由活化的上皮细胞、巨噬细胞、浸润的中性粒细胞等产生。正常情况下细胞通过自氧化生成 ROS,不需要酶催化。当细胞受到外界刺激时,促进 ROS 生成的酶活化,其中 NADPH(即辅酶 II)氧化酶、黄嘌呤氧化还原酶(xanthine oxidoreductase, XOR)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)催化的反应是 ROS 最重要的来源。在高氧诱导的 ROS 过度产生中,NADPH 氧化酶及 MPO 的活化可能发挥着主要作用。Parinandi 等^[3]将人肺动脉内皮细胞置于 95% 高氧环境下,发现此时 ROS 主要是由 NADPH 氧化酶催化产生。这与 Zhang 等^[4]在鼠肺上皮细胞中的研究结果一致。Buss 等^[5]分析了 144 例临床标本,提出 MPO 活性增强产生的过量 ROS,亦与 BPD 密切相关。但在高氧引起的肺损伤中,XOR 表达明显下降,提示内源性 XOR 不是高氧诱导 ROS 产生的主要途径。

[收稿日期]2008-07-24;[修回日期]2008-10-27
[作者简介]潘丽,女,博士。主攻方向:新生儿肺疾病。

2.2 肺组织抗氧化能力不足与 BPD

孕期后3个月,伴随着表面活性物质系统的成熟,胎肺产生 AOE_s 也逐渐增多,以适应宫外相对高氧的环境。足月出生的动物均具有成熟的对抗外界氧毒性的抗氧化系统,而早产儿尤其是极低体重出生儿的抗氧化系统则明显发育不完善。但也有学者指出早产儿对高氧的适应能力可能比人们预料的强,导致 BPD 发生的原因是由于相对较弱的抗氧化能力造成的^[6]。

高氧暴露下,如果肺组织抗氧化能力也能迅速上调,可能可以很大程度地减轻高氧导致的肺损伤。而事实上,早产狒狒^[7]、早产兔^[8]肺组织锰超氧化歧化酶(Mn-SOD),铜锌超氧化歧化酶(CuZn-SOD),过氧化氢酶(CAT),谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)蛋白活性在高氧环境中并未上调,这种损伤可能发生在转录后的调控阶段^[7]。Ec-SOD是目前已知唯一的对抗细胞外 O₂[·] 的因子,并可迅速阻断气道和血管中一氧化氮与 O₂[·] 的反应,增加 NO 的生物利用率。然而吸入 95% 高氧的新生鼠肺组织中胞外超氧化歧化酶(Ec-SOD)蛋白表达量虽然增多,活性却有所下降^[9]。

CAT 和 GPx 互补对抗 H₂O₂ 的毒性作用,CAT 主要在高浓度的 H₂O₂ 的环境中发挥作用,而 GPx 则主要在低浓度的 H₂O₂ 环境中作用。CAT 是体内唯一伴随着肺发育成熟上调其基因和蛋白活性的 AOE_s,但其对高氧似乎不敏感^[10]。早产狒狒^[7]、早产兔^[8] BPD 模型以及 RDS 和 BPD 患儿^[6]肺组织 CAT 蛋白活性均无明显改变;过度表达 CAT 的肺上皮细胞未显示出对高氧耐受;CAT 基因缺失鼠在高氧中也未显示出肺组织损伤加重^[10]。

既然 CAT 在高氧环境中作用不大,那么分别以谷胱甘肽(GSH)和硫氧还蛋白(Trx)为中心的途径在清除多余 H₂O₂ 的过程中可能具有更重要的作用。研究亦表明,BPD 患儿气道灌洗液中 GSH 含量明显下降。但由于高氧对 GSH 体系的影响存在种属和细胞差异^[7,8,11,12],其在早产儿 BPD 中的作用还有待进一步的研究。Trx 体系对周围氧环境的改变较敏感^[13],暴露于 95% 高氧的早产狒狒远端胎肺组织培养块(所有孕龄)中 Trx 和 Trx 还原酶(TR)基因表达均有所上调,但 Trx 蛋白活性却只在接近成熟(孕 175 d 早产狒狒)肺组织中上调,在较不成熟(孕 125 或 140 d 早产狒狒)肺组织中未见改变,说明其抗氧化的活性可能受到生长发育的限制。

此外,还有一些抗氧化剂的缺失或活性降低可能与 BPD 密切相关:如近年提出的对高氧敏感的候

选基因 *Nrf2*,其编码产物 NRF2 可与抗氧化反应成分(antioxidant response element, ARE)或亲电子反应成分(electrophilic response element, EpRE)结合,诱导“一线”抗氧化剂如 CAT, SOD, TR, GSH 还原酶(GR), GPx2 等和“二线抗氧化剂”如羧酸酯酶、醛氧化酶-1、醛脱氢酶等的表达^[14], *Nrf2* 基因缺失鼠对高氧非常敏感,可迅速造成其肺组织的损伤^[15]; HO-1 在高氧暴露下的新生鼠、BPD 患儿肺组织中表达未见上调等^[16]。

3 BPD 的抗氧化治疗

早产儿生长发育过程中潜在的抗氧化能力不足及生后外源性高氧所致的活性氧蓄积,说明了抗氧化治疗的合理性。而且研究也表明很多抗氧化剂可减轻高氧造成的细胞或组织损伤,如过度表达 Mn-SOD 和 GPx-1 的肺 A549 细胞在高氧中活性增强,对高氧耐受^[17]。靶向增强线粒体 GR 活性或上调细胞中 GSH 的含量可明显减少高氧对细胞生长的抑制作用^[18,19],保护细胞免受高氧损伤。但天然抗氧化剂往往具有特异的作用位点,过度表达某一(些)抗氧化剂在高氧环境中的作用亦不同,如 Ho^[20]发现转基因过度表达 Mn-SOD、CuZn-SOD 和 GPx 的小鼠对高氧仍然敏感,而过度表达 Ec-SOD 则可以促进肺发育、减轻炎症反应^[21]。

除转基因和基因敲除技术增强内源性抗氧化剂表达的研究外,很多动物实验表明外源性抗氧化剂对于高氧肺损伤具有一定程度的保护作用,如静脉内或者腹腔内注射脂质包裹或者聚乙烯乙二醇结合的 CuZn-SOD 和 CAT 对肺组织具有一定的保护作用;气管内吸入重组的 AOE_s,如 Mn-SOD、CuZn-SOD、CAT 及 HO-1^[22]对 ROS 介导的不同动物的肺损伤也具有一定的疗效;抗氧化金属锰卟啉 AE-OL10113(具有 SOD 活性)可减少 BPD 早产狒狒神经内分泌细胞及蛙皮素样肽,增加氧合^[23];吸入 N-乙酰半胱氨酸亦可减轻成年鼠的高氧肺损伤等^[24]。

基于动物体内外实验,一些抗氧化药物已应用于临床防治 BPD,如每 4 周大剂量肌注维生素 A、给予外源性维生素 E、静脉内给予 N-乙酰半胱氨酸等,但均未见明显疗效^[25]。气道内给予早产儿重组 CuZn-SOD 虽然增加了早产儿气道灌洗液、血浆和尿中 CuZn-SOD 的活性,减轻了急性肺损伤的程度,却未能改善 BPD 的平均死亡年龄。但进一步的随访发现,曾接受重组 CuZn-SOD 治疗的早产儿一年内入院率、患哮喘的几率均明显降低^[26]。

总而言之,临床上应用外源性的抗氧化剂治疗BPD 尚未见明显疗效,其应用于体内的不足可能与细胞渗透性差、血浆半衰期短和其抗原性有关。此外,外源性抗氧化剂亦很难表达于其天然的作用位点。

4 小结

综上所述,早产儿自低氧(氧浓度3%)的宫内进入相对高氧(氧浓度21%)的空气就承受着“高氧”的威胁,而当由于某些原因必须给予外源性的氧气进行治疗时,肺组织产生的ROS 远远超出了内在抗氧化剂的清除范围,氧化/抗氧化能力的失衡成为导致BPD 的重要原因。早期纠正氧化/抗氧化失衡,适当地补充高效抗氧化剂,可能是保护早产儿高氧肺损伤、防治BPD 的有效手段。

[参 考 文 献]

- [1] Rees MD, Kennett EC, Whitelock JM, Davies MJ. Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44(12):1973-2001.
- [2] Outten CE, Falk RL, Culotta VC. Cellular factors required for protection from hyperoxia toxicity in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Biochem J*, 2005, 388(Pt 1):93-101.
- [3] Parinandi NL, Kleinberg MA, Usatyuk PV, Cummings RJ, Pen-nathur A, Cardounel AJ, et al. Hyperoxia-induced NAD(P)H oxidase activation and regulation by MAP kinases in human lung endothelial cells[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, 284(1):L26-38.
- [4] Zhang X, Shan P, Sasidhar M, Chupp GL, Flavell RA, Choi AM, et al. Reactive oxygen species and extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinase mediate hyperoxia-induced cell death in lung epithelium[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 28(3):305-315.
- [5] Buss IH, Darlow BA, Winterbourn CC. Elevated protein carbonyls and lipid peroxidation products correlating with myeloperoxidase in tracheal aspirates from premature infants[J]. *Pediatr Res*, 2000, 47(5):640-645.
- [6] Kaarteenaho-Wiik R, Kinnula VL. Distribution of antioxidant enzymes in developing human lung, respiratory distress syndrome, and bronchopulmonary dysplasia[J]. *J Histochem Cytochem*, 2004, 52(9):1231-1240.
- [7] Morton RL, Das KC, Guo XL, Iklé DN, White CW. Effect of oxygen on lung superoxide dismutase activities in premature baboons with bronchopulmonary dysplasia[J]. *Am J Physiol*, 1999, 276(1 Pt 1):L64-74.
- [8] Sosenko IR, Chen Y, Price LT, Frank L. Failure of premature rabbits to increase lung antioxidant enzyme activities after hyperoxic exposure: antioxidant enzyme gene expression and pharmacologic intervention with endotoxin and dexamethasone[J]. *Pediatr Res*, 1995, 37(4 Pt 1):469-475.
- [9] Mamo LB, Suliman HB, Giles BL, Auten RL, Piantadosi CA, Nozik-Grayck E. Discordant extracellular superoxide dismutase expression and activity in neonatal hyperoxic lung[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 170(3):313-318.
- [10] Ho YS, Xiong Y, Ma W, Spector A, Ho DS. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(31):32804-32812.
- [11] Heyob KM, Rogers LK, Welty SE. Glutathione reductase Targeted to type II cells does not protect mice from hyperoxic lung injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 39(6):683-688.
- [12] Reddy NM, Kleeberger SR, Cho HY, Yamamoto M, Kensler TW, Biswal S, et al. Deficiency in Nrf2-GSH signaling impairs type II cell growth and enhances sensitivity to oxidants[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37(1):3-8.
- [13] Tipple TE, Welty SE, Rogers LK, Hansen TN, Choi YE, Kehrer JP, et al. Thioredoxin-related mechanisms in hyperoxic lung injury in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37(4):405-413.
- [14] Walters DM, Cho HY, Kleeberger SR. Oxidative stress and antioxidants in the pathogenesis of pulmonary fibrosis: a potential role for Nrf2[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(2):321-332.
- [15] Cho HY, Kleeberger SR. Genetic mechanisms of susceptibility to oxidative lung injury in mice[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(4):433-445.
- [16] Maróti Z, Katona M, Orvos H, Németh I, Farkas I, Túri S. Heme oxygenase-1 expression in premature and mature neonates during the first week of life[J]. *Eur J Pediatr*, 2007, 166(10):1033-1038.
- [17] Koo HC, Davis JM, Li Y, Hatzis D, Opsimos H, Pollack S, et al. Effects of transgene expression of superoxide dismutase and glutathione peroxidase on pulmonary epithelial cell growth in hyperoxia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 288(4):L718-726.
- [18] O'Donovan DJ, Katkin JP, Tamura T, Smith CV, Welty SE. Attenuation of hyperoxia-induced growth inhibition in H441 cells by gene transfer of mitochondrially targeted glutathione reductase[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, 22(6):732-738.
- [19] Ogunlesi F, Cho C, McGrath-Morrow SA. The effect of glutamine on A549 cells exposed to moderate hyperoxia[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1688(2):112-120.
- [20] Ho YS. Transgenic and knockout models for studying the role of lung antioxidant enzymes in defense against hyperoxia[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 166(12 Pt 2):S51-56.
- [21] Ahmed MN, Suliman HB, Folz RJ, Nozik-Grayck E, Golson ML, Mason SN, et al. Extracellular superoxide dismutase protects lung development in hyperoxia-exposed newborn mice[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(3):400-405.
- [22] Zhang X, Shan P, Jiang G, Zhang SS, Otterbein LE, Fu XY, et al. Endothelial STAT3 is essential for the protective effects of HO-1 in oxidant-induced lung injury[J]. *FASEB J*, 2007, 21(2):2156-2158.
- [23] Chang LY, Subramaniam M, Yoder BA, Day BJ, Ellison MC, Sunday ME, et al. A catalytic antioxidant attenuates alveolar structural remodeling in bronchopulmonary dysplasia[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(1):57-64.
- [24] Nagata K, Iwasaki Y, Yamada T, Yuba T, Kono K, Hosogi S, et al. Overexpression of manganese superoxide dismutase by N-acetylcysteine in hyperoxic lung injury[J]. *Respir Med*, 2007, 101(4):800-807.
- [25] Thomas W, Speer CP. Nonventilatory strategies for prevention and treatment of bronchopulmonary dysplasia-what is the evidence? [J]. *Neonatology*, 2008, 94(3):150-159.
- [26] Jobe AH. An unanticipated benefit of the treatment of preterm infants with CuZn superoxide dismutase [J]. *Pediatrics*, 2003, 111(3):680.

(本文编辑:邓芳明)