

过氧化作用与肝脏疾病

朱润芝, 李京敬, 谢超, 郜尽, 胡建军, 袁运生, 韩伟, 俞雁

■背景资料

肝脏疾病中, 过氧化通常被定义为强氧化复合物和抗氧化防御之间的不平衡, 过量的过氧化产物是肝脏疾病的重要指示物。活性氧是一种机体代谢反应的活性产物, 他可以造成很多细胞内分子如膜脂、蛋白和DNA损伤。氧化作用在肝脏疾病发病机制中有着重要意义。

朱润芝, 李京敬, 谢超, 袁运生, 俞雁, 上海交通大学农业与生物学院兽医生物技术上海市重点实验室 上海市 200240
谢超, 美国康奈尔大学农业与生命科学学院食品科学系 纽约市 14850
郜尽, 韩伟, 上海交通大学药学院再生医学实验室 上海市 200240
胡建军, 上海交通大学医学院附属上海市第六人民医院感染科 上海市 200233

作者贡献分布: 本综述由朱润芝、李京敬、谢超、郜尽、胡建军及袁运生完成, 韩伟与俞雁审校。

通讯作者: 俞雁, 教授, 博士生导师, 200240, 上海市闵行区东川路800号, 上海交通大学农业与生物学院3区409室。

yanyu@sjtu.edu.cn

电话: 021-34205769

收稿日期: 2009-12-19 修回日期: 2010-03-05

接受日期: 2010-03-15 在线出版日期: 2010-04-18

Oxidative stress and liver disease

Run-Zhi Zhu, Jing-Jing Li, Chao Xie, Jin Gao, Jian-Jun Hu, Yun-Sheng Yuan, Wei Han, Yan Yu

Run-Zhi Zhu, Jing-Jing Li, Chao Xie, Yun-Sheng Yuan, Yan Yu, Shanghai Municipality Key Laboratory for Veterinary Biotechnology, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Chao Xie, Department of Food Science, Cornell University, Ithaca, New York 14853-7201, United States

Jin Gao, Wei Han, Laboratory for Regenerative Medicine, School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Jian-Jun Hu, Department of Infectious Diseases, Shanghai Sixth People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Correspondence to: Professor Yan Yu, Shanghai Municipality Key Laboratory for Veterinary Biotechnology, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China. yanyu@sjtu.edu.cn

Received: 2009-12-19 Revised: 2010-03-05

Accepted: 2010-03-15 Published online: 2010-04-18

Abstract

Reactive oxygen species (ROS) are highly reactive molecules that are naturally generated in small amounts during the body's metabolic reactions and can react with and damage complex cellular molecules such as lipids, proteins, or DNA. Excessive oxidative stress contributes to the pathogenesis of liver disease and may serve as a prognostic indicator of poor clinical outcome. In this article, we will review the biological characteristics of free radicals and some anti-oxidants and discuss the association of oxidative

stress with many types of liver diseases.

Key Words: Reactive oxygen species; Reactive nitrogen species; Liver disease

Zhu RZ, Li JJ, Xie C, Gao J, Hu JJ, Yuan YS, Han W, Yu Y. Oxidative stress and liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(11): 1134-1140

摘要

肝脏疾病中, 过氧化通常被定义为强氧化复合物和抗氧化防御之间的不平衡, 过量的过氧化产物是肝脏疾病的重要标志物。活性氧是一种机体代谢反应的活性产物, 他可以造成很多细胞内分子如膜脂、蛋白和DNA损伤。氧化作用在肝脏疾病发病机制中有着重要意义。本文总结氧化作用自由基的特点以及部分抗氧化剂的特性, 并且讨论了氧化作用产物在肝脏疾病中的重要意义。

关键词: 活性氧; 活性氮; 肝脏疾病

朱润芝, 李京敬, 谢超, 郜尽, 胡建军, 袁运生, 韩伟, 俞雁. 过氧化作用与肝脏疾病. *世界华人消化杂志* 2010; 18(11): 1134-1140

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1134.asp>

0 引言

机体氧化反应产生的有害化合物具有强氧化性, 损害机体的组织和细胞, 进而引发慢性疾病及衰老。自由基也称为“游离基”, 是含有不成对电子的原子团。由于原子形成分子时, 化学键中电子必须成对出现, 因此自由基夺取其他物质的单个电子, 使自身形成稳定的物质, 这种现象被称为“氧化”。生物体内主要是氧自由基, 例如超氧阴离子自由基、羟自由基、脂氧自由基、二氧化氮和一氧化氮自由基, 加上H₂O₂、单线态氧和臭氧, 通称活性氧(reactive oxygen species, ROS)。自由基是必需的, 体内ROS自由基参与免疫和信号传导过程, 传递维持生命活力的能量, 杀灭细菌和寄生虫, 排除毒素。白细胞利用自由基来杀死外源性微生物, 体内一些

■同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

代谢反应需要自由基来催化, 血管的舒张和部分神经、消化系统信号的传导要借助自由基, 此外, 自由基可以刺激某些基因导致突变从而适应环境变化. 但过多的ROS自由基会导致正常细胞和组织的损伤. 太阳辐射、空气污染、农药和不健康饮食习惯都会使机体产生更多ROS自由基, 致使核酸突变, 这是衰老和疾病的根源. 自由基对人体的损害主要表现在破坏细胞膜, 使血清抗蛋白酶失去活性, 损伤基因导致细胞变异的出现和蓄积. 大量研究表明, 炎症、肿瘤、衰老、血液病, 以及心、肝、肺、皮肤疾病的发生机制与体内自由基产生过多或机体清除自由基能力下降有着密切关系. 过氧化作用是肝脏疾病的主要特点. 近年, 越来越多的研究证明ROS和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)导致肝脏功能发生改变, 表现在生成有害物和减少胆汁产生. 机体生物毒素和药物毒素与肝脏的代谢、肝细胞生物化学的反应失衡、ROS自由基的过量产生有关. 随之而来的氧化还原反应失衡和氧化损伤导致亚临床无黄疸性肝炎、坏死炎症性肝炎、肝硬化和肝癌等一系列疾病实质损害^[1].

1 过氧化作用的产物

1.1 自由基 肝脏是自由基产生的重要场所. 自由基的合成与肝脏中的氧化酶有关, 包含二胺氧化酶, 醛脱氢酶, 色氨酸双氧化酶, 肝脏脱氢酶, 以及细胞色素P450酶系统诱导的氧化还原和解偶联. 很多自由基都是在肝脏新陈代谢的过程中由内源性产物转化形成或者体外摄入(对乙酰氨基酚等药物).

1.2 ROS ROS包括过氧化物、 H_2O_2 和羟基. 过氧化物是含氧自由基的统称, 大部分时间伴随线粒体的呼吸作用产生. 当游离氧在水中接触到电子传递链中释放出来的电子, 便产生了 O^{2-} , 其他常见的超氧化物包括缺血组织中的黄嘌呤氧化酶以及氧合血红蛋白的分解产物. 过氧化物能够通过歧化反应转化为稳定的 H_2O_2 , 后者在金属离子作用下能够转化为具有高度活性的羟基, 继而形成ROS^[2]. ROS主要形成于肝细胞的线粒体, 此外, 肝脏库普弗细胞和炎细胞经NADPH氧化酶和黄嘌呤氧化酶作用, 也可以产生少量的ROS. 在线粒体中, 伴随着电子传递链中氧的消耗, 氧分子能够持续稳定转化为ROS. 肝细胞中有较多的线粒体, 能够产生大量极不稳定的ROS, 破坏蛋白质、DNA、脂类等分子

的活性. 肝脏并不仅仅只能产生大量的ROS, 肝脏还能通过蛋白质合成发挥抗氧化作用. 氧化损伤定义为生命机体的氧化损伤和抗氧化损伤处于不平衡状态时, 氧化损伤占优势地位.

1.3 RNS 一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS)在肝实质细胞和库普弗细胞中都存在. 肝脏发生炎症时, 含氮氧化物通过谷胱甘肽硫转移酶的作用可逆的结合在自由巯基团上, 含氮氧化物是一种高效的血管舒张剂, 可以减少细胞凋亡, 并以破坏DNA链的方式去除脂类自由基. 含氮氧化物形成活性中间体, 例如硝基酪氨酸, 会导致肝细胞坏死; 抑制线粒体功能; 消耗细胞的吡啶核苷酸, 导致DNA链断裂. 一氧化氮还能与过氧离子自由基结合形成过氧化氮化合物, 形成脂质体过氧化前体能导致细胞损伤, 抑制线粒体呼吸作用、 Na^+/K^+ 泵功能及磷酸化激酶活性.

2 氧化损伤

2.1 过氧化作用的一般结果

2.1.1 DNA损伤: 过氧化作用破坏DNA的双链结构, 导致DNA链断裂、解开, 甚至诱导机体基因突变, 引发肿瘤.

2.1.2 形成脂质过氧化体: 细胞膜上的多不饱和脂肪酸可以和氧分子作用产生过氧化氢自由基, 他是脂类过氧化物的中间体. 这个反应导致细胞膜结构变化从而改变细胞膜的流动性及其生物学功能, 例如离子转运、信号转导以及梯度渗透. 首先, 游离的羟基带走细胞膜脂质体上的氢原子, 从而转换成脂类自由基, 细胞膜上的这类自由基可以与其他含氧自由基共同生成新的自由基, 过氧自由基从邻近的脂质分子获取氢分子, 这个反应不断重复, 继而引起大规模的DNA损伤导致突变. 其次, 过氧化物还能够形成醛复合物, 引起器官的炎症以及纤维化, 例如酒精肝^[3]. 此外, 人类的非酒精性肝病以及丙型肝炎都不同程度表现为硫代巴比土酸和8-Isoprostane这类脂质过氧化物水平的升高, 这可以作为这一类肝脏疾病的重要标志物^[4].

2.1.3 蛋白损伤: 自由基导致的内源性蛋白损伤不但引起细胞功能改变, 还可能刺激机体的主动性免疫, 引发自身免疫性疾病. 多重的细胞内信号转导机制依赖于正常的蛋白结构和功能, 过氧化活性物能导致酶内氨基酸发生氧化, 改变蛋白的活性和抗原性.

2.2 氧化作用与肝炎 肝炎患者表现出氧化及抗

■ 研发前沿

肝脏毫无疑问是体内最重要的过氧化与抗氧化作用相交集的场所, 如何选择最佳的抗氧化治疗方案需要对肝脏这个生理病理复杂的器官进一步研究. 氧化作用的分子机制研究表面, 肝脏疾病通常会带来体内产生过量的ROS和RNS, 在合理的内源性抗氧化作用补偿性应答缺失时, 机体氧化作用失衡. 合理使用抗氧化剂对于阻止激活这些通路意义重大. 在了解肝脏疾病的分子机制后, 通过使用抗氧化剂来治疗相应疾病导致的抗氧化损伤, 将会成为药物开发的新途径.

■相关报道

机体过氧化作用与肝脏疾病的分子机制研究尤为重要, Evans等相关研究表明, 机体氧化作用失衡时, 信号通路与NF- κ B, p38 MAPK, JNK/SAPK, PKC, AGE/RAGE等有关, 合理使用抗氧化剂对于阻止激活这些通路意义重大。

氧化失衡. 肝脏炎症细胞所产生的过量氧自由基能够攻击宿主细胞, 主导疾病的发生、发展及预后, 并且影响抗病毒治疗的敏感性. 过氧化作用导致DNA损伤和突变, 在肝癌的发病过程中发挥重要作用. 慢性肝病、肝硬化及肝炎患者血液中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性均明显低于正常对照, 且与ALT呈明显负相关. 肝脏疾病患者存在严重的脂质过氧化损伤, 监测GSH-Px、SOD活性及丙二醛MDA、Se的含量对肝病患者疗效和预后都具有重要意义^[5].

Halliwell等^[6]通过对不同类型肝病患者血清检测, 发现患者血清SOD均有明显下降. 研究人员^[7]检测30例慢性乙型肝炎患者血清, 显示丙二醛浓度及抗坏血酸浓度显著升高. 丙二醛浓度与谷丙转氨酶水平呈明显正相关, 丙二醛水平可以作为肝脏组织损伤的重要判断指标, Demirdag等也有类似报道^[8]. Bolukbas等^[9]和Eboumbou等^[10]发现肝硬化患者的血清抗氧化能力较非活动性HBsAg携带者及正常对照组明显降低. 病毒性肝炎患者血清及尿液中, 氧化损伤相关因子的表达是增加的, 并且与肝细胞损伤程度呈正相关. 肝炎患者的TNF- α 、TGF- β 的显著升高, 与氧化损伤、病理损伤以及肝纤维化密切相关^[11]. 肝星状细胞对凋亡小体的吞噬作用能够增加细胞内氧自由基的产生, 促进肝脏星状细胞的激活从而增加肝脏纤维化的机会^[12]. 8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxydeoxyguanosine, 8-OHdG)为氧自由基诱导的DNA突变片段产物, 是评价DNA损伤的重要指标, Kitada等^[13]运用免疫组织化学的方法检测慢性乙型肝炎患者肝细胞和胆管细胞中8-OHdG的表达, 结果显示门静脉周围的肝脏坏死区及炎症浸润区较为明显, 肝细胞内8-OHdG数量和肝脏病理损伤正相关, 氧化损伤导致DNA突变, 诱发癌症. 还原型GSH可以阻断过氧化物的作用. 过氧化物能够显著降低HBV颗粒的释放, 并且能够抑制HBsAg和HBeAg的释放, 影响HBV DNA的复制^[14].

总之, 在肝脏疾病不同的阶段, 抗氧化复合物随着过氧化自由基的蓄积量变化不断变化. 通常, 过氧化作用是机体健康所必需的, 例如中性粒细胞产生过氧化物杀死细菌性病原体. 同时, 自由基会影响到细胞内的信号转导和基因表达调控, 进而导致机体炎症反应. 过氧化通常被定义为强氧化复合物和抗氧化防御之间的失

衡, 过量的过氧化产物无疑是疾病的重要指示物^[15]. 由于过氧化产物较为复杂, 很难在临床上定量测定, 导致针对氧化损伤的治疗非常困难.

3 抗氧化系统以及氧化损伤标志物

抗氧化剂包括谷胱甘肽(glutathione, GSH)、硫氧还蛋白(thioredoxin, TRX)、维生素C、维生素E、 β -胡萝卜素等. 活性氧清除酶系统包括: SOD、GSH-Px、过氧化氢酶等. GSH是一个在生物机体内含有极丰富巯基基团的复合物, 巯基能够提供电子给自由基. 细胞中GSH是以还原形式存在的, 他提供电子后能够转化成稳定的二聚体氧化型谷胱甘肽(oxidative glutathione, GSSG), GSSG能够阻止自由基持续的释放电子. GSH提供电子后, GSH-Px能够还原H₂O₂为O₂和H₂O, 并且可以还原脂质过氧化物. GSSG能在谷胱甘肽还原酶的作用下还原为GSH, 过氧化物酶体内的过氧化氢酶也能够将过氧化氢还原为氧气和水. TRX也是一个在氧化损伤作用下产生的蛋白质, 可以结合双硫键, 清除H₂O₂^[16]. 维生素A, 维生素C, 维生素E是细胞介导免疫反应和病毒性肝炎中最重要的抗氧化剂^[17].

细胞内过氧化物活性体的变化会引起细胞功能和基因表达的变化, 甚至可以导致细胞凋亡和坏死. 过氧化的标志物有脂类过氧化物4-hydroxynonenal(4-HNE)和DNA氧化产物8-hydroxyguanosine(8-OHG)的上升; GSH、维生素A、维生素E和维生素C的下降; 包括GSH和GSSG之间氧化还原型比值的变化. 过氧化作用与肝功能衰竭有着重要关联, 而且, 他还是酒精性肝炎和病毒性肝炎的重要特征性反应. 尽管肝脏损伤的诱因不同, 但是引起的结果包括炎症、纤维化、硬变都是相近的, 这些状况都与过氧化作用的结果有关.

维生素C和维生素E是血浆中最主要的抗氧化剂. 维生素C能够抑制水溶性基团、清除脂质过氧化产物以及还原生育酚残基为生育酚, 进而修复自由基对细胞的损伤^[18]. 维生素E作用于生物膜, 与微量元素硒协同作用, 能有效的阻断脂质过氧化和抑制氧自由基的产生. 类胡萝卜素能够协助清除ROS尤其是单态氧的形成, 同时, 胡萝卜素能够起到抑制脂质过氧化作用^[19]. 4-羟基-2-酚(4-Hydroxy-2-nonenal, HNE)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)是脂质氧化反应的产物, 8-羟基脱氧鸟苷是DNA碱基修正的产物, 这些产物都可以作为氧化损伤的指标.

3.1 内源性抗氧化剂 抗氧化作用也是一个复杂涉酶和不涉酶的过程, 酶类抗氧化剂: (1)SOD, SOD被氧化损伤所诱导产生并能够歧化两个 $O_2^{\cdot -}$, 产生 H_2O_2 和 O_2 的反应. SOD的抗氧化能力来自其所含镁、铜和锌, 机体内浓度可被诱导而提高; (2)过氧化氢酶, 催化 H_2O_2 转变为 H_2O 和 O_2 ; (3)GSH-Px, 同样催化 H_2O_2 转变为 H_2O 和 O_2 , 并且将部分过氧化物转变为乙醇; (4)谷胱甘肽转移酶、血浆铜蓝蛋白等也可以参与调控过氧化反应产物的代谢. 这类抗氧化剂有效降低了机体有害的过氧化物. 非酶类抗氧化剂: (1)脂溶性维生素E, 可以接受细胞膜上产生的过氧自由基的电子, 形成自由基, 阻止脂类过氧化物的形成; (2)水溶性维生素C, 具有很强的抗氧化能力; (3)GSH, 是细胞内最重要的抗氧化物, 其巯基可以接收自由基的不成对电子. GSH能够和自由基配对, 通过肾脏代谢产物, 对肝脏8-羟基脱氧鸟苷酶活性的影响尤为重要. 这一类自由基是一种可逆的结构体, 可以通过简单的化学反应来转换(GSSG/GSH), 或者借助于其他抗氧化剂(维生素C或维生素E)来完成转换; (4)功能性小分子, 例如尿酸、类黄酮以及类胡萝卜素. 涉酶和不涉酶的抗氧化反应通常是协同作用的. 例如, 过氧化物歧化酶作用下, 机体产生 H_2O_2 后, GSH-Px携带 H_2O_2 和水氧化谷胱甘肽前体(GSH)形成二硫化物谷胱甘肽(GSSG). 谷胱甘肽还原酶促成氧化性谷胱甘肽(GSSG)到GSH的转换. GSH-Px在清除细胞质和线粒体中过氧化氢起到相当重要的作用, 当然这也得依赖于机体内充足的内源性谷胱甘肽(GSH).

3.1.1 GSH及其系列酶的研究: GSH是一种三肽化合物(L- γ -谷氨酰-半胱氨酸-甘氨酸), 广泛分布于动植物中, 是一种哺乳动物内源性抗氧化剂. GSH的主要生理功能: 维持红细胞膜的完整性; 保护与恢复需要巯基酶活性的功能; 是多种酶的辅基与辅酶; 参与氨基酸的吸收及转运; 参与高铁血红蛋白的还原作用及促进铁的吸收; 清除体内有害毒物和代谢物. GSH主要以还原型(GSH)和氧化型(GSSG)两种形式广泛存在于机体内, 一般组织中主要以GSH形式存在. GSH不仅可作为GSH-Px、GSH-ST的底物去除 H_2O_2 、有机氢过氧化物(LOOH), 而且可以直接清除多种氧自由基, 同时也是构成膜及胞质保护因子的必需成分, 阻止氧自由基对机体的损伤. 还原型GSH和氧化型GSSG之间的比率变化直观反应机体过氧化状态. 慢性肝炎患者的血

液中GSH/GSSG比值上升, 但肝脏中GSH/GSSG比值下降^[20]. GSH抗氧化系统主要指谷胱甘肽(GSH+GSSG)、GSH-Px、谷胱甘肽-S转移酶(glutathione-S-transferases, GSH-ST)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase GR), 其相互之间有着密切的联系. GSH-Px和GSH-ST的主要作用是以GSH为底物, 清除体内的 H_2O_2 和LOOH. (1)GSH: GSH存在于所有动物细胞中, 正常环境下以其硫醇还原型(GSH)存在, 是细胞内主要的非蛋白质巯基化合物. GSH分子结构中的活性巯基具有很强的亲和力, 能够与多种化学物质及人体代谢产物结合, 清除体内的超氧离子和自由基, 保护细胞膜的完整性, 具有抗脂质氧化作用, 从而维持细胞的正常代谢. 氧化应激可使细胞内GSH含量下降, 或使其转变为双硫氧化型(GSSG), 后者又可通过以NADPH为辅酶的谷胱甘肽还原酶转变为GSH. 近年来发现, 谷胱甘肽除具有抗氧化和调节机体巯基平衡的作用外, 在中枢神经系统中也有神经递质或神经调质样作用. 研究表明, 慢性肝病患者中GSH较正常对照有明显降低^[21]. (2)GSH-Px: GSH-Px是广泛存在于机体的一种重要的催化 H_2O_2 分解的酶. 他特异催化还原型GSH对 H_2O_2 的还原反应, 起到保护细胞膜结构和功能的作用. GSH-Px的活性中心是硒半胱氨酸, 1单位酶分子含4单位硒原子. GSH-Px清除脂质氢过氧化物, 减轻有机氢过氧化物对机体的损伤^[22], 并且在过氧化氢酶含量很少或者 H_2O_2 产量很低的组织中代替过氧化氢酶清除 H_2O_2 ^[23,24], 参与调节前列腺素的生物合成. Czuczejko等^[25]发现慢性肝病患者血浆中硒的浓度以及红细胞中GSH-Px的活力比健康对照明显降低. (3)谷胱甘肽-S转移酶: 谷胱甘肽-S转移酶是一组与肝脏解毒功能相关的同工酶, 主要催化各种化学物质及其代谢产物与GSH的巯基共价结合, 1961年由Boyer发现^[26], 广泛分布于动植物界, 动物体肝脏中含量尤为丰富, 微量存在于近曲肾小管、小肠黏膜、肾上腺皮质、睾丸和卵巢等组织中. 人类肝脏中含有多种GSH-ST的同工酶, 最初研究人员在人类肝组织中鉴定了5种碱性GSH-ST同工酶^[27], 后来发现的GSH-ST同工酶达到了13种. 根据理化结构、酶学及免疫学特点, GSH-ST分为三类: GSH-ST α , GSH-ST μ 和GSH-ST π , 前两者主要存在于成人肝脏, 后者主要见于肾脏、胎盘和胎肝. GSH-ST按其等电点的不同, 可分为碱性、中性、酸性, 其中GSH-ST α 类为碱性, GSH-ST μ 类接近中性,

■同行评价

本文论述内容先进, 论述观点准确, 具有很好的参考意义.

GSH-ST π 类为酸性,人类肝脏中GSH-ST的含量约占胞质蛋白质总含量的5%。GSH-ST的作用主要有:(1)催化GSH的巯基攻击亲电物质的亲电中心,产生一种硫醚连接的GSH结合物;(2)以高亲和力直接结合胆红素、甾醇和其他亲脂性物质;(3)某些GSH-ST具有GSH-Px活性,即具有抑制脂质过氧化作用。GSH-ST可作为肝细胞损伤的标志物,比转氨酶更有意义。(4)谷胱甘肽还原酶:谷胱甘肽还原酶是一种黄素酶,每分子酶蛋白含有一分子的FAD。由辅酶NADPH供氢,催化GSSG还原成GSH。Pak等^[28]的研究发现,在急性乙型肝炎患者的血清中,GR的含量明显降低。机体内的GSH主要通过合成和还原两条途径生成。肝脏是合成GSH的主要场所,通过 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶和谷胱甘肽合成酶催化合成,合成过程中需消耗ATP。还原途径是GR在NADPH存在的条件下还原GSSG为GSH,另外还可通过巯基转移酶作用生成GSH。肝脏不仅具有合成GSH的能力,而且具有运输GSH的能力,为周围组织提供大量的GSH。正常生理条件下,肝脏中90%-95%的GSH被转运到周围组织,其中的80%-85%通过肝窦膜进入血液,另外的通过小管膜进入胆汁,5%-10%的GSH参与各种反应氧化成GSSG,或被酶破坏消耗。

3.2 外源性的抗氧化剂

3.2.1 螯合物:肝脏是体内转运和存储铁最重要的器官,肝脏内铜的积累是慢性肝炎的表现,同时是铜代谢遗传缺陷性肝炎的重要诱因。可以结合金属的物质都可以认作是抗氧化剂,肝脏富含半胱氨酸蛋白,可以结合肝脏中多种金属,例如铜和锌。肝脏中的铁可以结合于铁蛋白(铁传递蛋白和乳铁传递蛋白)和血铁黄素。结合铜的血浆铜蓝结合蛋白和白蛋白,以及外源性铜结合载体青霉素。

3.2.2 食物性抗氧化剂:食物性抗氧化剂是指从食物中获取的可以减少体内自由基积累并且减轻他们对机体的损伤的摄入物,包括维生素C和维生素E。维生素E在抗氧自由基损伤方面的作用越来越受到重视。维生素包含 α -生育酚(Tocopherol)和三烯生育酚(Tocotrienols)。自然界共有8类,即 α 、 β 、 γ 、 δ -生育酚和 α 、 β 、 γ 、 δ -三烯生育酚。其中, α -生育酚具有3个甲基分别定位于色满醇环的5, 7, 8位上,是生物活性最强的生育酚。维生素E尽管在膜上的含量较低,但他是最重要的脂溶性抗氧化剂,能对抗包括H₂O₂、脂质过氧化体等多种氧化剂。维生素E还可以减

少肿瘤坏死因子(TNF- α),从而降低骨胶原产物生成。在缺氧性肝损伤时,肝脏中维生素E水平降低。发生铜源性肝病时,维生素E会降到很低的水平。维生素E可以与硒协同使用以控制四环素导致的肝病^[29]。此外,维生素E对治疗慢性肝炎、肝硬变、铜相关性肝病有一定疗效。维生素C作为还原剂,在细胞内外都具有重要的清除氧自由基和抗脂质过氧化的作用。这与仅限于细胞内的自由基清除剂SOD和GSH-Px的防御方式不同。维生素C可提高肝组织中GSH水平,保存 α -生育酚,还原 α -生育酚自由基,使被还原的维生素E在细胞膜上继续发挥作用。还可以延迟 β -胡萝卜素的消耗,增强GSH-Px和谷胱甘肽还原酶活力。维生素E和维生素C能够协同作用,让一些脂质过氧化物链断裂。此外,植物性类黄酮也可以起到强效的抗氧化剂的作用。此外还有一些类胡萝卜素(CAR)、甘露糖醇、植物酚类,是H₂O₂、ROS、RNS等的清除剂。维生素A可以激活巨噬细胞,通过激活肝脏库普弗细胞清除过氧化物以降低脂类过氧化物和减少肝脏损伤。

3.2.3 S-腺苷-L-蛋氨酸(S-Adenosylmethionine): S-腺苷-L-蛋氨酸是与机体新陈代谢相关的重要复合物,表现为甲基的迁移和氨基反应。S-腺苷-L-蛋氨酸是公认的最常见的抗氧化剂,同时也是GSH的前体。研究表明给予S-腺苷-L-蛋氨酸可以迅速补充酒精肝患者的GSH缺乏,并且能够延长肝移植患者的存活时间,提高存活率。此外, S-腺苷-L-蛋氨酸使对乙酰氨基酚注射后的猫红细胞免受氧化损伤^[30]。S-腺苷-L-蛋氨酸作为OTC药品,对不同肝脏疾病给予剂量有所不同,推荐剂量一般为空腹20 mg/kg,研究表明能有效抑制对乙酰氨基酚引起的不良反应,并且对慢性肝炎、脂肪肝、胆汁性肝炎有很好的疗效。

3.2.4 水飞蓟:水飞蓟是菊科草本植物,所含的活性成分主要存在于种子中,有水飞蓟宾(silybin)、异水飞蓟宾(isosilybin)、水飞蓟宁(silidianin)和水飞蓟丁(silichristin),统称为水飞蓟素(silymarin)。水飞蓟是肝细胞膜稳定剂,可以增强肝细胞表面黏膜,在欧洲作为人类保肝药物已经有一百多年的历史。保护肝细胞膜,对三硝基甲苯、CCl₄、 α -鹅膏蕈、鬼笔碱的肝脏毒性有很好的缓解作用,增加胆汁分泌。水飞蓟宾有清除自由基、抗脂质过氧化、抑制5-脂氧合酶、抗GSH排空、抗肿瘤、降血脂、保护肝细胞膜、促进肝细胞修复和抗肝纤维化等药理学效应^[31]。目前水飞蓟主要作为一种保肝植物,其制

剂已广泛用于治疗急慢性肝炎及肝硬化, 由于具有较强的抗氧化作用, 在美国及欧洲已将其作为抗氧化食品添加剂. Bindoli等^[32]人研究发现水飞蓟素可以有效抑制在线粒体和微粒体中抗 Fe^{2+} -抗坏血酸诱发的脂质过氧化作用. Antonello等^[33]给小鼠服用高铁饮食后, 给予水飞蓟, 发现水飞蓟素能防止脂质过氧化, 增加肝组织中GSH含量. 肝硬化发生时, NO是引起高动力循环和低氧血症的主要介质, NO含量升高对组织细胞有毒性作用, 并能增强活化的单核巨噬细胞的毒性作用^[34], 此外, 在 H_2O_2 的参与下, NO的细胞毒性作用显著增强, 特别表现在与超氧阴离子结合后生成过亚硝酸盐. 水飞蓟素具有抑制活化的库普弗细胞产生NO, 进而使其与超氧阴离子相互作用减弱. 研究表明, 在给予犬 CCl_4 之前注射水飞蓟素可以显著降低血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶, 说明水飞蓟素能够去除机体的肝毒素.

3.2.5 胆烷酸: 胆烷酸与其他抗氧化剂不同, (1)他是一个处方药; (2)通常作为其他病症(如促胆汁分泌)的临床药物; 他也用作非酒精性脂肪肝的治疗, 研究表明非酒精性脂肪肝的致病机制可能与胰岛素合成缺乏和肝脏过氧化作用有关. 熊脱氧胆酸(UDCA)是治疗非酒精性脂肪肝的一个重要手段, 具有利胆、保肝护肝、抗氧化的作用. 实际上, UDCA治疗非酒精性脂肪肝是和维生素E和维生素C合并治疗一样有效的, 可以降低ALT, 甚至更好的降低GOT活性. UDCA减轻肝脏以及线粒体因为慢性胆汁郁积而引起的GSH消耗以及自由基的产生, 从而降低继发的胆汁性肝硬变的发生率. 当然, 还需要进一步研究他对胆管炎、慢性肝炎、铜富集引发的肝病作用机制.

4 结论

比起细菌学、病毒学等很多领域, 对自由基的研究相对滞后. 人类对自由基的研究开始于20世纪初, 最初研究自由基的化学反应过程, 随后自由基知识渗透到生物学领域. 虽然在20世纪60年代人们已经认识到自由基与疾病的紧密联系, 但由于技术手段限制, 研究进展缓慢. 近年来, 研究自由基的技术有了新的突破, 推动了生物学的迅速发展, 形成了一个以化学、物理学和生物医学相结合的蓬勃发展的新领域即自由基生物医学. 过氧化作用是多样的, 抗氧化剂在作用机制上也有所不同. 过氧化和抗氧化不是

简单的相反作用量的叠加, 而是一个复杂的过程. 设计一个有效的抗氧化方案首先必须了解哪种过氧化引起的损伤最为严重, 脂类过氧化体, DNA损伤以及炎症因子都是自由基作用引发的结果. 这类复杂的结果需要多重的抗氧化处理, 肝脏毫无疑问是体内最重要的过氧化与抗氧化作用相交集的场所, 如何选择最佳的抗氧化治疗方案需要我们对肝脏这个生理病理复杂的器官进一步研究. 氧化作用的分子机制研究表面, 肝脏疾病通常会带来体内产生过量的ROS和RNS, 在合理的内源性抗氧化作用补偿性应答缺失时, 机体氧化作用失衡. 信号通路NF- κ B, p38 MAPK, JNK/SAPK, PKC, AGE/RAGE等有关, 合理的使用抗氧化剂对于阻止激活这些通路意义重大^[35]. 进一步地说, 在了解肝脏疾病的分子机制后, 通过使用抗氧化剂来治疗相应疾病导致的抗氧化损伤, 将会成为药物开发的新途径. 当前, 基于抗氧化作用来治疗肝脏疾病还停留在使用常规的天然中草药活性提取物、维生素等复方成分, 解决一些表象问题, 对于肝脏疾病的分子机制了解还不是很透彻, 今后的研究应该将细胞生物学、分子生物学、病理学等紧密结合起来, 能够从药物靶向机制上找到切入点, 为治疗肝脏疾病提供新的思路.

5 参考文献

- 1 Wheeler MD, Kono H, Yin M, Rusyn I, Froh M, Connor HD, Mason RP, Samulski RJ, Thurman RG. Delivery of the Cu/Zn-superoxide dismutase gene with adenovirus reduces early alcohol-induced liver injury in rats. *Gastroenterology* 2001; 120: 1241-1250
- 2 Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8: 1865-1879
- 3 Stehbens WE. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol* 2004; 77: 121-132
- 4 Stehbens WE. Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc. *Exp Mol Pathol* 2003; 75: 265-276
- 5 彭庆远, 钟辉秀, 尹朝伦. 硒、GSH-Px、SOD、MDA测定在探测肝脏疾病过氧化脂质损伤中的临床应用. *国际检验医学杂志* 2001; 22: 324
- 6 Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev* 1997; 55: S44-S49; discussion S49-S52
- 7 王凯, 王兵, 范晓鹏. 慢性乙型肝炎患者氧化损伤的研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2004; 18: 172-174
- 8 Demirdag K, Yilmaz S, Ozdarendeli A, Ozden M, Kalkan A, Kilic SS. Levels of plasma malondialdehyde and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with chronic hepatitis B. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 766-770
- 9 Bolukbas C, Bolukbas FF, Horoz M, Aslan M, Celik H, Erel O. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection. *BMC Infect Dis*

- 2005; 5: 95
- 10 Eboumbou C, Steghens JP, Abdallahi OM, Mirghani A, Gallian P, van Kappel A, Qurashi A, Gharib B, De Reggi M. Circulating markers of oxidative stress and liver fibrosis in Sudanese subjects at risk of schistosomiasis and hepatitis. *Acta Trop* 2005; 94: 99-106
- 11 Poli G. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med* 2000; 21: 49-98
- 12 Zhan SS, Jiang JX, Wu J, Halsted C, Friedman SL, Zern MA, Torok NJ. Phagocytosis of apoptotic bodies by hepatic stellate cells induces NADPH oxidase and is associated with liver fibrosis in vivo. *Hepatology* 2006; 43: 435-443
- 13 Kitada T, Seki S, Iwai S, Yamada T, Sakaguchi H, Wakasa K. In situ detection of oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in chronic human liver disease. *J Hepatol* 2001; 35: 613-618
- 14 Zheng YW, Yen TS. Negative regulation of hepatitis B virus gene expression and replication by oxidative stress. *J Biol Chem* 1994; 269: 8857-8862
- 15 Roth E, Manhart N, Wessner B. Assessing the antioxidative status in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 161-168
- 16 Tuma DJ. Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 303-308
- 17 Madan K, Bhardwaj P, Thareja S, Gupta SD, Saraya A. Oxidant stress and antioxidant status among patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 930-935
- 18 Center SA, Warner KL, Erb HN. Liver glutathione concentrations in dogs and cats with naturally occurring liver disease. *Am J Vet Res* 2002; 63: 1187-1197
- 19 Spee B, Arends B, van den Ingh TS, Penning LC, Rothuizen J. Copper metabolism and oxidative stress in chronic inflammatory and cholestatic liver diseases in dogs. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 1085-1092
- 20 Webb CB, Twedt DC, Fettman MJ, Mason G. S-adenosylmethionine (SAME) in a feline acetaminophen model of oxidative injury. *J Feline Med Surg* 2003; 5: 69-75
- 21 Grisham MB, Granger DN, Lefer DJ. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 404-433
- 22 Fridovich I. Oxygen free radicals and tissue damage: chairman's introduction. *Ciba Found Symp* 1978; 1-4
- 23 Ladenstein R, Epp O, Bartels K, Jones A, Huber R, Wendel A. Structure analysis and molecular model of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 2.8 Å resolution. *J Mol Biol* 1979; 134: 199-218
- 24 Halliwell B, Gateridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Clarendon Press 1985; 96-98
- 25 Czuczejko J, Zachara BA, Staubach-Topczewska E, Halota W, Kedziora J. Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. *Acta Biochim Pol* 2003; 50: 1147-1154
- 26 Boyer TD. The glutathione S-transferases: an update. *Hepatology* 1989; 9: 486-496
- 27 Vander Jagt DL, Hunsaker LA, Garcia KB, Royer RE. Isolation and characterization of the multiple glutathione S-transferases from human liver. Evidence for unique heme-binding sites. *J Biol Chem* 1985; 260: 11603-11610
- 28 Pak SG, Nikitin EV. [Status of the processes of free-radical oxidation and the antioxidation system in patients with a severe course of hepatitis B] *Klin Med (Mosk)* 1991; 69: 54-57
- 29 Hill AS, Rogers QR, O'Neill SL, Christopher MM. Effects of dietary antioxidant supplementation before and after oral acetaminophen challenge in cats. *Am J Vet Res* 2005; 66: 196-204
- 30 Center SA, Randolph JF, Warner KL, McCabe-McClelland J, Foureman P, Hoffmann WE, Erb HN. The effects of S-adenosylmethionine on clinical pathology and redox potential in the red blood cell, liver, and bile of clinically normal cats. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 303-314
- 31 阎玉峰, 于健东. 水飞蓟化学成分及药理研究进展. *中国药事* 2000; 14: 335-338
- 32 Bindoli A, Cavallini L, Siliprandi N. Inhibitory action of silymarin of lipid peroxide formation in rat liver mitochondria and microsomes. *Biochem Pharmacol* 1977; 26: 2405-2409
- 33 Pietrangelo A, Borella F, Casalgrandi G, Montosi G, Ceccarelli D, Gallesi D, Giovannini F, Gasparetto A, Masini A. Antioxidant activity of silybin in vivo during long-term iron overload in rats. *Gastroenterology* 1995; 109: 1941-1949
- 34 Filburn CR, Kettenacker R, Griffin DW. Bioavailability of a silybin-phosphatidylcholine complex in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 2007; 30: 132-138
- 35 Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2002; 23: 599-622

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕