

白藜芦醇抗氧化应激在防治肺动脉高压中的作用机制

杨东鹏 王晓武 董文鹏

【摘要】 肺动脉高压病死率极高,近年研发的新型药物疗效局限,患者死亡率并未得到显著改善。氧化应激是多因素诱导的氧化超负荷引起的病理改变,研究表明其在肺动脉高压的内皮损伤和血管平滑肌细胞活化增殖过程中具有重要作用。白藜芦醇是上世纪发现的中药单体,大量的细胞和动物实验验证了白藜芦醇具有抑制平滑肌细胞增殖和促进内皮损伤修复的作用,其机制与清除活性氧自由基和改善氧化应激损伤有关。白藜芦醇有望成为逆转肺动脉高压的新药。

【关键词】 肺动脉高压;白藜芦醇;氧化应激;细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.04.011

英国人口与流行病学研究表明,近年来肺动脉高压(pulmonary artery hypertension,PAH)的发病趋于老龄化,且合并症逐年增加^[1]。目前最新的 PAH 治疗方案仅可改善患者症状,病死率仍然很高^[2]。研究表明,PAH 是一种血管重构性疾病^[3]。平滑肌细胞和内皮细胞增殖分化是其主要病理基础。活性氧物质(ROS)刺激在肺动脉内皮细胞损伤和平滑肌细胞活化增殖方面的作用逐渐受到重视。病理学研究证实,ROS 在 PAH 病理过程中发挥重要作用^[4-5]。白藜芦醇(resveratrol,RES)是具有生物学多效性的多酚类物质。二十世纪九十年代,Siemann 等^[6]发现,法国的心血管疾病发生率较低与国民经常饮用的红葡萄酒中含较高的 RES 密切相关;进一步的研究证实,RES 是某些治疗炎症、脂类代谢紊乱和心血管疾病的类草药的有效成分,可清除氧自由基和改善氧化应激损伤。动物和细胞实验表明,RES 具有防治 PAH 的作用,其机制与舒张平滑肌、抑制炎症反应和细胞活化增殖等相关。清除氧自由基和改善氧化应激损伤关系密切。本文主要介绍 RES 抗氧化应激作用在防治 PAH 领域的研究进展。

1 RES 与氧化应激

研究表明,RES 是有效的活性氧清除剂。RES 可激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK),增加细胞线

粒体数量及活性,提高辅酶 I (NAD)向还原型辅酶 II (NADPH)的转化率,减少 ROS 的生成^[7]。ROS 的生成和清除呈动态平衡,是机体维持内环境稳态的重要机制。在氧化应激发生时,机体自由基生成过多,导致 ROS 大量堆积。炎症反应和高代谢状态是 ROS 的重要来源。RES 通过抑制炎症以及调节能量代谢降低机体的氧化应激水平^[6,8]。

陈明亮等^[9]研究发现,RES 可能通过沉默信息调节因子 1/解偶联蛋白 2/叔丁基氢过氧化物(Sirt1/UCP2/t-BHP)通路减少细胞内 ROS 表达水平,保护血管内皮组织。Cheng 等^[10]研究发现,RES 通过清除 ROS 及自由基,激活腺苷酸活化蛋白激酶/蛋白激酶 B/一氧化氮合酶(AMPK/AKT/NOS)通路,增加血管组织一氧化氮(NO)的生成,进而扩张血管,对抗内皮损伤及平滑肌细胞增殖。

Zhang 等^[11]对大鼠的实验研究发现,RES 通过调节体内氧化应激水平改善内毒素血症引起的肺组织氧化应激损伤,具体机制是:(1)通过减少促氧化剂如丙二醛和过氧化氢的产生,提高抗氧化物质如谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(GSH/GSSG)比值、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶的表达水平。(2)ROS 增加引起氧化超载,与诱导型一氧化氮合酶(iNOS)介导生成的大量 NO 反应生成硝酸盐,引起硝化应激,破坏组织蛋白,引起组织损伤和功能紊乱。RES 对内毒素血症引起的 iNOS 过表达及 NO 生成过量有抑制作用,可缓解硝化应激引起的组织损伤及二次打击中的氧化应激。RES 通过调节 NOS 的表达,增加内皮型一氧化氮合酶(eNOS)而

抑制 iNOS 表达,避免组织产生大量 NO,有效阻断硝化应激,精确调节 NO 的分布和功能。(3)通过抑制 iNOS 的表达和活性,减少硝酸盐的生成及进一步的炎症及氧化应激损伤,保护肺动脉,延缓或逆转 PAH。

Kesherwani 等^[12]研究发现,RES 可通过调节氧化应激相关因子水平,改善脊髓侧索损伤中氧化应激的二次打击损伤,如抑制谷胱甘肽胞外释放引起的钙超载导致的氧化应激损伤,该过程可能与 RES 对钙离子通道的调控相关,而钙离子通道在肺动脉收缩、舒张及细胞增殖中发挥调节作用。

2 PAH 与氧化应激

临床研究表明,PAH 患者体内抗氧化物质的表达水平并无降低,这表明 ROS 生成增加在 PAH 病理机制中具有重要作用^[13]。

在 PAH 的病理过程中,管腔狭窄和血管收缩是肺动脉压力升高和病理变化的关键环节^[2]。管腔狭窄是决定预后的核心因素。ROS 可直接氧化生物活性分子并损伤脱氧核糖核酸(DNA),破坏血管内皮细胞和功能,引起血管收缩和平滑肌细胞活化增殖。抗凝血酶Ⅱ(AT-Ⅱ)、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、尾加压素(UT-Ⅱ)等激素和物理刺激(高压)均可导致氮氧化物(NOX)的过表达,引起 ROS 水平的增高,这些活性氧通过直接氧化 NO 形成亚硝酸盐,破坏 NO 活性并干扰 NO 功能,造成血管内皮损伤,使舒张功能受损,并诱导平滑肌细胞增殖活化^[14-15]。

PAH 氧化应激与 NADPH 氧化酶的激活和过表达密切相关,通过氧化四氢生物蝶呤(BH4)介导 eNOS 解偶联,抑制 eNOS 介导的 NO 生成,导致具有生物活性的 NO 生成减少,而 ROS 增加^[7];iNOS 在细胞受炎症及氧化应激等刺激下活化,诱导 NO 病态剧增;ROS 诱导 NO 和过氧化物反应生成亚硝酸盐,破坏 NO 生物活性,而亚硝酸盐进一步刺激线粒体生成更多的 ROS,形成恶性循环。NO 可通过生成亚硝酸盐诱发硝化应激,发挥细胞毒性和组织损伤作用^[16];NADPH 氧化酶可激活缺氧诱导因子-1(HIF-1),继而激活转化因子,诱导平滑肌细胞增殖活化,引起肺动脉血管壁重构。

PAH 患者存在交感兴奋,氧化应激可刺激中枢交感兴奋,引起血压升高,而血压的升高可诱导 ROS 生成增加,加重氧化应激,使病情进一步恶化^[16-17]。

3 RES 抗氧化应激在防治 PAH 中的作用机制

过氧化物酶体增殖活化受体 γ 共激活因子-1 α (PGC-1)的表达水平对肺组织抗氧化应激及代谢改善具有重要意义。研究显示,RES 可以提高 PCG-1 的活性和表达水平,通过抑制 ROS 的活性及表达水平,缓解肺组织缺血-再灌注损伤引起的氧化应激;而 PCG-1 对改善组织细胞线粒体生成、内环境稳定、减少线粒体源性 ROS 生成也有积极意义^[6]。

RES 主要通过调节组织细胞代谢,抑制炎症反应及相关因子的产生,抑制 ROS 生成及活性,清除氧自由基;RES 还可通过 β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白或髓样分化因子 88/Toll 样受体 4/核转录因子 kappa B(TRIF or MyD88/ TLR4/ NF- κ B)信号通路抑制炎症反应,共同发挥抗氧化应激作用,保护肺动脉^[13]。

RES 通过活化磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)通路增加超氧化物歧化酶的表达水平,抑制 ROS 生成,对氧化应激损伤的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)发挥保护作用^[18]。通过激活 mTOR 复合物 2(mTORC2)诱导损伤后细胞自噬,在组织损伤导致的急性能量缺乏早期,减少能量需求及损耗,增加能量来源,确保组织细胞的能量供给,提高受损组织的细胞存活率^[19]。

RES 可激活一氧化氮/丝裂原活化蛋白激酶/磷脂酰肌醇-3 激酶(NO/MAPK/PI3K)通路,抑制 CC 类趋化因子受体 2(CCR2)蛋白及 mRNA 表达,抑制炎症相关因子及其受体的表达,降低机体 ROS 的生成及相关因子如 P47、白细胞介素(IL)-6 等的水平,同时增加 NO 利用率,保护内皮细胞。RES 还可直接清除氧自由基,减少炎症相关性诱导型活性氧物质的产生,抑制细胞外调节蛋白激酶-1/2(ERK-1/2)磷酸化诱导的 DNA 复制,抑制平滑肌细胞增殖活化及血管重构^[18]。

RES 通过激活 AMPK,增加 eNOS 活性,促进 NO 的生成,改善血流动力学变化引起的血管紧张,对抗内皮素引起的血管收缩,发挥降血压的作用;同时,RES 可增强线粒体的生物活性,提高 NAD 向 NADPH 转化率,减少因能量代谢引起的炎症因子及 ROS 的生成,发挥抗炎反应和抗氧化应激的作用^[6]。

4 结语与展望

RES 防治氧化应激损伤的作用机制与其直接

清除 ROS 的特性和增加抗氧化酶的活性密切相关。RES 还可抑制炎症反应及相关的氧化应激损伤。然而, RES 生物利用率低、水溶性差、化学性质不稳定, 使其临床应用受到限制。纳米技术可提高 RES 的溶解度, 与归巢肽联合应用可增加 RES 的靶向性并提高局部血药浓度。

参 考 文 献

- [1] Ling Y, Johnson MK, Kiely DG, et al. Changing demographics, epidemiology, and survival of incident pulmonary arterial hypertension: results from the pulmonary hypertension registry of the United Kingdom and Ireland[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186(8):790-796.
- [2] 李静静, 张一梅. 微小 RNA 与肺动脉高压的研究进展[J]. *国际心血管病杂志*, 2014, 41(1):11-13.
- [3] Dromparis P, Paulin R, Stenson TH, et al. Attenuating endoplasmic reticulum stress as a novel therapeutic strategy in pulmonary hypertension[J]. *Circulation*, 2013, 127(1):115-125.
- [4] Zuo L, Rose BA, Roberts WJ, et al. Molecular characterization of reactive oxygen species in systemic and pulmonary hypertension[J]. *Am J Hypertens*, 2014, 27(5):643-650.
- [5] Rawat DK, Alzoubi A, Gupte R, et al. Increased reactive oxygen species, metabolic maladaptation, and autophagy contribute to pulmonary arterial hypertension-induced ventricular hypertrophy and diastolic heart failure [J]. *Hypertension*, 2014, 64(6):1266-1274.
- [6] Gordish KL, Beierwaltes WH. Resveratrol induces acute endothelium-dependent renal vasodilation mediated through nitric oxide and reactive oxygen species scavenging[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306(5):F542-F550.
- [7] Cheng PW, Ho WY, Su YT, et al. Resveratrol decreases fructose-induced oxidative stress, mediated by NADPH oxidase via an AMPK-dependent mechanism [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(11):2739-2750.
- [8] Carolo dos Santos K, Pereira Braga C, Octavio Barbanera P, et al. Cardiac energy metabolism and oxidative stress biomarkers in diabetic rat treated with resveratrol[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e102775.
- [9] 陈明亮, 易龙, 金鑫, 等. 白藜芦醇对 TNF- α 诱导的血管内皮细胞炎性反应的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(13):1255-1258.
- [10] Cheng PW, Ho WY, Su YT, et al. Resveratrol decreases fructose-induced oxidative stress, mediated by NADPH oxidase via an AMPK-dependent mechanism [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(11):2739-2750.
- [11] Zhang HX, Duan GL, Wang CN, et al. Protective effect of resveratrol against endotoxemia-induced lung injury involves the reduction of oxidative/nitrative stress [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2014, 27(2):150-155.
- [12] Kesharwani V, Atif F, Yousuf S, Agrawal SK. Resveratrol protects spinal cord dorsal column from hypoxic injury by activating Nrf-2[J]. *Neuroscience*, 2013, 241:80-88.
- [13] Van der Wal SE, Vaneker M, Kox M, et al. Resveratrol attenuates NF- κ B-binding activity but not cytokine production in mechanically ventilated mice[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2014, 58(4):487-494.
- [14] González J, Valls N, Brito R, et al. Essential hypertension and oxidative stress: New insights[J]. *World J Cardiol*, 2014, 6(6):353-366.
- [15] Montezano AC, Touyz RM. Molecular mechanisms of hypertension—reactive oxygen species and antioxidants: a basic science update for the clinician[J]. *Can J Cardiol*, 2012, 28(3):288-295.
- [16] Fike CD, Dikalova A, Slaughter JC, et al. Reactive oxygen species-reducing strategies improve pulmonary arterial responses to nitric oxide in piglets with chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(14):1727-1738.
- [17] Lam YY, Peterson CM, Ravussin E. Resveratrol vs. calorie restriction: data from rodents to humans[J]. *Exp Gerontol*, 2013, 48(10):1018-1024.
- [18] Brito PM, Devillard R, Nègre-Salvayre A, et al. Resveratrol inhibits the mTOR mitogenic signaling evoked by oxidized LDL in smooth muscle cells[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 205(1):126-134.
- [19] Chachay VS, Kirkpatrick CM, Hickman IJ, et al. Resveratrol—pills to replace a healthy diet? [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2011, 72(1):27-38.

(收稿:2015-02-02 修回:2015-05-11)

(本文编辑:孙 雯)