

· 综 述 ·

氧化应激/还原应激在心力衰竭中的研究进展

许晓华,刘凤岐,张瑞英*

(哈尔滨医科大学附属第一医院内科危重症病房,哈尔滨 150000)

【摘 要】 氧化应激自 1985 年由德国科学家 Sies 第一次提出之后,关于氧化应激的研究已有 30 多年历史,且从未中断。国内外大量研究已经证实氧化应激参与心力衰竭的发生和发展。针对临床前环境中的抗氧化应激治疗也进行了广泛研究,并显示出非常有希望的结果,但是目前临床上采用的大多数抗氧化策略都未能改善心力衰竭患者的预后。原因可能是大部分研究忽略了还原应激的损伤作用。本文将概述心力衰竭时氧化应激/还原应激的变化特点,以期对未来抗氧化/还原应激方向提供新的见解。

【关键词】 自由基;抗氧化系统;氧化应激;还原应激

【中图分类号】 R54 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.09.155

Progress in research on oxidative stress/reductive stress in heart failure

XU Xiao-Hua, LIU Feng-Qi, ZHANG Rui-Ying*

(Department of Internal Medicine, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, China)

【Abstract】 Oxidative stress was first proposed by German scientist Sies in 1985 and its research has been continued for more than 30 years. A large number of studies across the world have confirmed that oxidative stress is involved in the occurrence and development of heart failure. Anti-oxidative stress treatment in preclinical settings has also been extensively investigated with promising results. However, most of the anti-oxidation strategies currently used in clinical practice have failed to improve the prognosis of patients with heart failure. This article summarizes the changes in oxidative stress/reduction stress in heart failure and provides new insights into the future orientations in antioxidant/reduction stress.

【Key words】 free radical; antioxidant system; oxidative stress; reductive stress

This work was supported by Science and Technology Research Project of Heilongjiang Education Department (12541291).

Corresponding author: ZHANG Rui-Ying, E-mail: zhangruiyingha@126.com

随着人类预期寿命的增加和急性缺血事件死亡率的降低,心力衰竭的发病人数正以每年 900000 例的速度增加^[1]。尽管目前给予有效治疗,但心力衰竭仍然是严重威胁人类健康的危险因素之一,其 5 年死亡率可达 50%。心脏是耗氧最多的器官,因此氧化还原信号变化及氧化应激/还原应激在急、慢性心力衰竭的进展中起着至关重要的作用,且已经被大量基础研究证实。一般认为,相对于氧化还原当量如还原/氧化谷胱甘肽比值 (glutathione/oxidative glutathione, GSH/GSSG)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸还原型/氧化型比值 (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphoric acid/oxidized nicotinamide adenine dinucleotide phosphoric acid, NADPH/NADP+)、烟酰

胺腺嘌呤二核苷酸还原态/氧化态比值 (reduced nicotinamide adenine dinucleotide/oxidized nicotinamide adenine dinucleotide, NADH/NAD+) 等,过量的活性氧被定义为氧化应激;相反, GSH/NADPH/NADH/抗氧化剂的过度积累被定义为还原应激。本文就氧化应激/还原应激在心力衰竭中的研究进展作如下综述。

1 活性氧及抗氧化系统

与生物系统相关的活性氧 (active oxygen, ROS) 形式包括超氧自由基 (free radicals superoxide, O₂⁻)、过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂) 和羟基 (hydroxyl radical, OH)。体内抗氧化防御系统包括非酶系统

和酶系统。前者主要由抗氧化剂组成,如 GSH、维生素 C 和 E、胆红素、尿酸和 β -胡萝卜素等;后者包括超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、NADH/NAD⁺ 和依赖于 NADPH 的过氧化氢酶 (catalase, CAT)、过氧化物酶、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、硫氧还蛋白等^[2]。

2 氧化应激

生理水平 ROS 在细胞信号转导及稳定细胞内环境中起关键作用。一些 ROS,特别是 H₂O₂,被认为是局部信号分子,因此完全猝灭 ROS 可能会中断正常信号级联而产生严重的不良后果。一般认为,ROS 适用于区室化信号传导,抗氧化防御系统可防止其“泄漏”到不需要的区域。当达到一定的 ROS 形成阈值和 ROS 降解受损时可导致氧化应激 (oxidative stress, OS) 的发生^[3,4]。OS 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。

2.1 心力衰竭时过量 ROS 的来源

心脏内 ROS 来源于心肌细胞、内皮细胞和嗜中性粒细胞。而在心肌细胞内,ROS 可来源于以下几个方面^[2,3]。(1) 线粒体电子传递链。心力衰竭时从呼吸链的复合物 I 产生的 O₂⁻ 增加,从而导致 H₂O₂、OH⁻ 过量形成以及 NAD(P) 的消耗,过量的 ROS 可进一步增加 ROS 生成。(2) NADPH 氧化酶。可使电子从 NADH/NADPH 转移到分子 O₂ 的位点,形成 O₂⁻。(3) 黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO)。XO 的表达和活性在衰竭的心脏中也有增加,XO 催化嘌呤降解途径的最后 2 个步骤,将次黄嘌呤转化为黄嘌呤和黄嘌呤转化为尿酸。XO 在黄嘌呤反应形成尿酸过程中被还原,产生 2 分子的 H₂O₂ 和 2 分子的 O₂⁻;(4) 内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)。ROS 可氧化四氢生物蝶呤 (tetrahydrobio-pterin, BH₄),BH₄ 是 eNOS 的重要辅助因子,当 BH₄/NOS 的比例失调时,可导致 eNOS 催化 L-精氨酸的作用解耦连,eNOS 催化产物由一氧化氮变为超氧阴离子。(5) 儿茶酚胺自氧化。单胺氧化酶存在于线粒体外膜上,是含有黄素蛋白的酶,它可催化单胺类与氧反应生成 H₂O₂ 与 O₂⁻。

2.2 心力衰竭时抗氧化系统变化

心力衰竭时不仅有 ROS 的过量产生,还存在抗氧化酶的活性下降。研究发现心力衰竭动物模型中

ROS 增加,而 SOD、CAT、GSH-Px 的活性显著降低^[5];而 NADPH 氧化酶抑制剂 Apocynin 可使 CAT 和 SOD 酶活性恢复^[6]。此外,与野生型小鼠相比,SOD 基因敲除的小鼠蛋白质氧化产物硝基酪氨酸增多,心肌纤维化及心肌肥大明显增加^[7]。GSH-Px 缺乏可增加氧化应激进而诱导血管内皮功能障碍和结构性血管异常^[8]。

2.3 氧化应激在心力衰竭发展中的作用

OS 产生的过量 ROS 可导致线粒体 DNA 损伤和功能下降,并进一步增加 ROS 生成和细胞损伤。

ROS 通过修饰影响心肌兴奋收缩偶联蛋白质,包括 L 型钙通道、钠通道、钾通道和钠钙交换器以及增加心肌肌原纤维蛋白、心肌肌球蛋白 C 的 S-谷胱甘肽化,直接损害心肌细胞电生理和收缩、舒张功能,导致心肌收缩、舒张功能障碍和心律失常的发生^[3,9,10]。

ROS 激活多种肥大信号激酶和转录因子如 Src、GTP 结合蛋白 Ras、蛋白激酶 C、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 Jun 核激酶 (Jun nuclear kinase, JNK),促使心肌细胞肥大^[11]。

ROS 可激活 NF- κ B、P53 基因、MAPK、PARA-1 信号转导通路诱导细胞凋亡,低水平的 H₂O₂ 与 MAPK 活化和蛋白合成相关,而较高水平 H₂O₂ 刺激 MAPK、JNK、p38 和蛋白激酶 B (Akt) 激酶促进细胞凋亡^[12]。

ROS 可激活基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP),诱导骨桥蛋白分泌,促进转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- β 合成,激活 MAPK 及 FGF-2 通路诱导心脏成纤维细胞增殖及细胞外基质重塑,具有促纤维生成作用^[13,14]。

ROS 可使骨骼肌及膈肌线粒体功能障碍、蛋白质分解增加、损伤肌肉纤维、诱导炎症等,可能与心力衰竭患者运动不耐受、易疲劳等症状有关^[15,16]。

3 还原应激

大型临床试验证实,给予大剂量维生素 E/C 并未改善患者临床预后,而较高剂量的维生素 E 甚至会导致动脉粥样硬化和血管功能恶化,可能与抗氧化剂过量导致的还原应激 (reductive stress, RS) 有关。RS 定义为促氧化剂/抗氧化剂之间的平衡紊乱,使细胞、机体处于相对还原状态,同样会对组织造成损伤。RS 的原因可能由于终端接受电子受体的缺失、电子供体 NADPH 和 NADH 的积累、抗氧化剂/酶还原能力增加所致。

3.1 电子供体积累及电子受体氧缺乏诱发 RS

线粒体基质内 O_2^- 的生成主要取决于高质子动力、NADH/NAD⁺ 和还原型/氧化型辅酶 Q10 比值 (reduced coenzyme Q10/oxidative coenzyme Q10, CoQ10H₂/CoQ10^[11]) 以及局部氧浓度,而且当线粒体基质中的 NADH/NAD⁺ 比率较高以及较低的 CoQ10 时,线粒体复合物酶体 I 可产生更多的 ROS,使其超过 ROS 清除能力,从而导致净 H_2O_2 从线粒体溢出,引起还原应激^[17]。

NADPH 主要由戊糖磷酸途径提供,其限速酶是葡萄糖 6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)。在起搏诱导的犬心力衰竭模型中,心脏中 G6PD 表达上调、左心室匀浆中的 O_2^- 及 NADPH 水平增加,加入 NADPH 进一步刺激了超氧化物的产生,NADPH 氧化酶抑制剂 gp91 可使匀浆中的 O_2^- 产生减少 80%,而在 G6PD 抑制剂 6-氨基烟酰胺存在的情况下, O_2^- 的产生降低到正常水平^[18]。此研究说明 NADPH 过多累积可诱发还原应激,进一步增加 ROS 产生。

有研究发现缺氧时氧化磷酸化的丧失导致 NADH 的增加,使线粒体和胞质溶胶中 NAD⁺/NADH 比值降低,在缺氧条件下,天冬氨酸转化为丙酮酸的活性增加也可导致胞质 NADPH 增加^[4]。

3.2 抗氧化剂/酶的还原能力增加诱发 RS

有研究认为,OS 和 RS 引起的损伤本质上是氧化性的,均表现为 ROS 增加。不同抗氧化剂如 N-乙酰半胱氨酸、维生素 E 或 GSH 乙酯可诱发 RS,促使脂肪细胞的线粒体功能障碍,进一步增加 ROS 产生^[19]。Korge 等^[20] 发现,在 ROS 清除系统增强的情况下,当电子流受到抑制或电子受体如 GSSG、氧化硫氧还蛋白大部分减少时,谷胱甘肽还原酶和硫氧还蛋白还原酶通过将其还原黄素蛋白中的电子“泄漏”给氧生成 H_2O_2 。此研究表明在 RS 过程中,ROS 的产生超过清除能力,导致线粒体净 ROS 溢出,导致氧化损伤。

人类特异性心脏 R120GαB-晶状体蛋白 (*hR120GCryAB*) 转基因小鼠,表现为心脏肥大、心力衰竭、过早死亡。Rajasekaran 等^[21] 发现 *hR120GCryAB* 基因通过增加 G6PD、谷胱甘肽还原酶和 GSH-Px 的表达和酶活性,激活 GSH 生物合成-再循环途径,使 GSH 浓度和 GSH/GSSG 比值增加,激活 RS,且其丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平降低。在 *R120GCryAB* 高表达心肌病中,RS 与氧化还原敏感的核红细胞 2 相关因子 2 (Nrf2) 转录因子的激活有关,Nrf2 缺陷可降低 GSH 和 GSH/GSSG 比值,减轻

心脏肥大,并改善小鼠的存活时间^[22]。Zhang 等^[23] 发现补充 N-乙酰半胱氨酸或者细胞过表达 GSH,可引发成肌细胞线粒体中的还原性 GSH 氧化还原电位,ROS 水平未升高,但处于还原状态的细胞活性仍然降低。表明抗氧化剂/酶的还原能力增强无论是否增加 ROS 产生均对组织、细胞有损伤作用。

4 氧化还原失衡

ROS 具有调节细胞分化、增值、迁移等功能。氧化和还原状态的变化会影响代谢、ROS 的产生和降解、酶活性和其他蛋白质功能^[4]。ROS 尤其是 H_2O_2 ,在蛋白质中形成必需的二硫化物结构和功能性硫醇的氧化还原状态中起着重要作用,抑制线粒体 ROS 产生可抑制蛋白质二硫化物形成并诱导 RS,RS 导致二硫键形成的减少,并诱导内质网的未折叠蛋白反应,最终导致蛋白质的功能障碍和积聚,可能与蛋白质聚集性心肌病有关^[24]。

5 机体氧化还原状态的检测

细胞的氧化还原环境可以通过多种方式进行监测,包括 3 种主要氧化还原对 GSH/GSSG、NADPH/NADP⁺、NADH/NAD⁺ 以及 GSH/GSSG、NADPH/NADP⁺ 氧化还原电位^[25]。

循环的氧化还原检测,Zitka 等^[26] 发现血浆 GSH/GSSG 比值可以用作儿童不同肿瘤患者中的 OS 标志物,根据 GSH/GSSG 比值辅助肿瘤患者的鉴别诊断。表明血浆中 GSH/GSSG 比值或许可以作为循环氧化还原检测指标。

Sairam 等^[27] 用循环氧化还原评分 CRS (即 GSH/MDA) 作为外周氧化还原指数,将健康人的 CRS 指定为正常氧化还原 (NR),发现心力衰竭患者中 41% 属于 NR 组,42% 属于高氧化组,17% 表现出超还原性。超声心动图分析显示,55% 的高氧化性患者有较高的收缩功能障碍,而 62.5% 的高还原性患者有较高的舒张功能障碍。这项研究表明,不同心力衰竭患者可能处于不同的氧化还原状态,这也许是对所有心力衰竭患者应用抗氧化剂治疗未能改善其预后的原因。未来 OS 研究方向或许可以针对高还原性患者进行抗 RS 治疗,对高氧化性患者行抗 OS 治疗,但同时需避免诱发 RS。

6 小结

尽管一些大型临床抗 OS 治疗并未改善心力衰竭患者的预后,这并未否定 ROS 在心力衰竭进展中的作用,开发抗氧化/还原应激的新药物或者新方法

是有必要的。但是 RS 及如何调整氧化还原之间的平衡需引起人们的足够重视。未来抗氧化应激治疗方向可以通过针对不同氧化还原状态的患者做出个性化的抗氧化/还原策略,平衡机体内 OS 与 RS、抑制 ROS 在心力衰竭进展中的某种机制等策略或许可以改善心力衰竭治疗现状。

【参考文献】

[1] Members WG, Mozaffarian D, Benjamin EJ, *et al.* Heart disease and stroke statistics — 2016 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2016, 133(4): e38–e360. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000350.

[2] Munzel T, Gori T, Keaney JF Jr, *et al.* Pathophysiological role of oxidative stress in systolic and diastolic heart failure and its therapeutic implications[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(38): 2555–2564. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv305.

[3] van der Pol A, van Gilst WH, Voors AA, *et al.* Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(4): 425–435. DOI: 10.1002/ehf.1320.

[4] Handy DE, Loscalzo J. Responses to reductive stress in the cardiovascular system[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 109: 114–124. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.006.

[5] Khaper N, Kaur K, Li T, *et al.* Antioxidant enzyme gene expression in congestive heart failure following myocardial infarction[J]. *Mol Cell Biochem*, 2003, 251: 9–15.

[6] Gimenes R, Gimenes C, Rosa CM, *et al.* Influence of apocynin on cardiac remodeling in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2018, 17(1): 15. DOI: 10.1186/s12933-017-0657-9.

[7] van Deel ED, Lu Z, Xu X, *et al.* Extracellular superoxide dismutase protects the heart against oxidative stress and hypertrophy after myocardial infarction[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44: 1305–1313. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.007.

[8] Forgione MA, Cap A, Liao R, *et al.* Heterozygous cellular glutathione peroxidase deficiency in the mouse: abnormalities in vascular and cardiac function and structure [J]. *Circulation*, 2002, 106: 1154–1158. DOI: 10.1161/01.CIR.0000026820.87824.6A.

[9] Silberman GA, Fan THM, Liu H, *et al.* Uncoupled cardiac nitric oxide synthase mediates diastolic dysfunction [J]. *Circulation*, 2010, 121(4): 519–528. DOI: 0.1161/CIRCULATIONAHA.109.883777.

[10] Jeong EM, Monasky MM, Gu L, *et al.* Tetrahydrobiopterin improves diastolic dysfunction by reversing changes in myofilament properties[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 56: 44–54. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2012.12.003.

[11] Sag CM, Santos CXC, Shah AM. Redox regulation of cardiac hypertrophy[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 73: 103–111. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2014.02.002.

[12] Morales J, Li L, Fattah FJ, *et al.* Review of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) mechanisms of action and rationale for targeting in cancer and other diseases[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2014, 24(1): 15–28.

[13] Matsui Y, Jia N, Okamoto H, *et al.* Role of osteopontin in cardiac fibrosis and remodeling in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy[J]. *Hypertension*, 2004, 43(6): 1195–1201. DOI: 10.

1161/01.HYP.0000128621.68160.dd.

[14] Kardami E, Jiang ZS, Jimenez SK, *et al.* Fibroblast growth factor 2 isoforms and cardiac hypertrophy [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 63(3): 458–466. DOI: 10.1016/j.cardiores.2004.04.024.

[15] Martinez PF, Bonomo C, Guizoni DM, *et al.* Modulation of MAPK and NF- κ B signaling pathways by antioxidant therapy in skeletal muscle of heart failure rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(1): 371–384. DOI: 10.1159/000445631. DOI: 10.1159/000445631.

[16] Barreiro E, Puig-Vilanova E, Marin-Corral J, *et al.* Therapeutic approaches in mitochondrial dysfunction, proteolysis, and structural alterations of diaphragm and gastrocnemius in rats with chronic heart failure[J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(7): 1495–1513. DOI: 10.1002/jcp.25241.

[17] Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species[J]. *Biochem J*, 2009, 417(1): 1–13. DOI: 10.1042/BJ20081386.

[18] Gupte SA, Levine RJ, Gupte RS, *et al.* Glucose-6-phosphate dehydrogenase-derived NADPH fuels superoxide production in the failing heart[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(2): 340–349. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2006.05.003.

[19] Peris E, Micallef P, Paul A. Antioxidant treatment induces reductive stress associated with mitochondrial dysfunction in adipocytes[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(7): 2340–2352. DOI: 10.1074/jbc.RA118.004253.

[20] Korge P, Calmettes G, Weiss JN. Increased reactive oxygen species production during reductive stress; the roles of mitochondrial glutathione and thioredoxin reductases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1847(6–7): 514–525. DOI: 10.1016/j.bbabi.2015.02.012.

[21] Rajasekaran NS, Connell P, Christians ES, *et al.* Human alpha B-crystallin mutation causes oxido-reductive stress and protein aggregation cardiomyopathy in mice [J]. *Cell*, 2007, 130: 427–439. DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.044.

[22] Kannan S, Muthusamy VR, Whitehead KJ, *et al.* Nrf2 deficiency prevents reductive stress-induced hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 100(1): 63–73. DOI: 10.1093/cvr/cvt150.

[23] Zhang H, Limphong P, Pieper J, *et al.* Glutathione-dependent reductive stress triggers mitochondrial oxidation and cytotoxicity[J]. *FASEB J*, 2012, 26(4): 1442. DOI: 10.1096/fj.11-199869.

[24] Yang Y, Song Y, Loscalzo J. Regulation of the protein disulfide proteome by mitochondria in mammalian cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(26): 10813–10817. DOI: 10.1073/pnas.0702027104.

[25] Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple[J]. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(11): 1191–1212.

[26] Zitka O, Skalickova S, Gumulec J, *et al.* Redox status expressed as GSH : GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients [J]. *Oncol Lett*, 2012, 4(6): 1247–1253. DOI: 10.3892/ol.2012.931.

[27] Sairam T, Patel AN, Subrahmanian M, *et al.* Evidence for a hyper-reductive redox in a sub-set of heart failure patients[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 130. DOI: 10.1186/s12967-018-1503-x.