

[15] Narayanan BA, Narayanan NK, Simi B *et al* . Modulation of inducible nitric oxide synthase and related proinflammatory genes by the omega - 3 fatty acid docosahexaenoic acid in human colon cancer cells. *Cancer Res*, 2003, 63(5): 972

[16] Kobayashi H, Spilde TL, Bhatia AM *et al* . Retinoid signaling controls mouse pancreatic exocrine lineage selection through epithelial - mesenchymal interactions. *Gastroenterology*, 2002, 123(4):1 331
(2006 - 03 - 16 收稿, 责任编辑 尤伟杰)

含硫抗氧化剂在消化系统疾病中的临床应用

郭 喆¹ 强烈应¹ 张雪梅¹ 综述 杨昭绿² 审校 (¹ 武警北京总队第二医院药剂科, 北京 100037; ² 首都医科大学附属北京天坛医院, 北京 100050)

关键词 含硫抗氧化剂 自由基 消化系统疾病

含硫氨基酸通过影响细胞氧化还原、细胞清除毒性物质、自由基和反应性氧类物质 (Reactive oxygen species, ROS), 来维护和整合细胞系统。甲硫氨酸和半胱氨酸是动物体内两个主要的含硫氨基酸。甲硫氨酸是必需氨基酸, 可通过食物获取; 而半胱氨酸是非必需氨基酸, 是甲硫氨酸的代谢产物。两者均可明显地增加有机硫细胞池从而保持含硫的内环境, 并且调节碳的代谢。酶调节硫池的缺乏可引起各种疾病, 包括胱氨酸血症、胱氨酸尿症和神经管缺如。硫代谢失衡与多种疾病相关, 如血管病、Alzheimer 病、艾滋病和癌症。因此, 保持硫平衡是一种重要的治疗方法, 含硫抗氧化剂已广泛应用于各系统疾病的治疗中^[1]。

1 自由基与自由基清除体系

含有一个不成对电子的分子或原子团称自由基。它们主要来自 ROS 和反应性氮类物质 (Reactive nitrogen species, RNS), 包括过氧化氢、超氧阴离子自由基、羟自由基、一氧化氮 XO 自由基等。在人体内各种理化状态和病理生理状态普遍存在。体内自由基的产生和清除应是平衡的, 人体才能保持健康。如果自由基产生过多和清除自由基的能力下降, 体内就会有更多的自由基, 特别是氧自由基, 可使脂质、蛋白质和 DNA 发生变化, 损伤细胞成分, 导致疾病和衰老的发生。人体各器官均有防御 ROS 与 RNS 形成即清除自由基的机制, 从而可快速修复自由基造成的损伤。体内自由基清除体系主要包括抗氧化酶和抗氧化剂两类。来自许多食物成分中的超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶、谷胱甘肽、谷胱甘肽过氧化酶及还原酶、维生素 E、维生素 C 等都是大自然为人体提供的抗氧化剂。流行病学证据表明, 大量摄取具有抗氧化作用的食物和有关成分, 可降低人体各种疾病的发病率和病死率。现代研究显示应用抗氧化剂/抗自由基制剂有利于预防或控制疾病。人体内抗自由基损伤体系被认为是可与免疫系统相比拟的体系, 开发和应用有抗氧化作用的药物具有重要意义^[2]。

2 氧自由基与消化疾病

2.1 氧自由基与胃黏膜损害 研究发现黄嘌呤氧化酶促发的氧自由基能使内皮素 - 1 (ET - 1) 诱导的缺血 - 再灌注的大鼠胃溃疡明显恶化, 注射 24 h 脂质过氧化达高峰, 而用胃黏膜保护剂氧嘌呤醇可对抗之^[3]。在酒精性胃损害中, ET - 1 与氧自由基生成增加, 起损害作用, 内源性 NO 可抑制 ET - 1 的产生, 清除氧自由基而起保护作用^[3]。汪艳娟等^[4]报道, 幽门结扎型胃溃疡大鼠血中 SOD 活性降低, 丙二醛 (MDA) 含量增加; 胃溃疡组织 SOD、谷胱甘肽过氧化酶 (GSH - Px) 活性降低, MDA 含量增加与溃疡积分之间存在显著正相关。幽门螺杆菌感染影响胃黏膜调节肽的浓度, 如胃泌素、生长抑素、胆囊收缩素以及谷胱甘肽和谷胱甘肽转硫酶浓度与活性。谷胱甘肽转硫酶涉及到细胞对细胞外及其它成分的去毒性作用。其活性降低可能导致幽门螺杆菌感染的胃黏膜诱导肿瘤的发生^[5]。作为黏膜损害的攻击因子, 不仅是胃酸, 还有引发炎症的氧自由基等。故在慢性胃炎、消化性溃疡病的治疗策略中, 除应用抑酸药物外, 也应考虑应用抗氧自由基的药物。

2.2 氧自由基与急性胰腺炎 近年来, 重症胰腺炎以及并发的多器官功能障碍更多地是由活化的中性粒细胞及其释放的产物 (而不单是由活性的胰酶) 所引起的。研究发现, 氧自由基参与急性胰腺炎病理生理过程。急性胰腺炎的发病早期体内的抗氧化系统就严重受损, 表现为脂质过氧化产物增高和抗氧化物质活性的减低。

正常时体内有多层天然的抗氧自由基系统: 第 1 道防线是由酶类组成, 如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化酶, 第 2 道防线是由低分子清除剂组成, 拮抗氧化剂产生的细胞损伤, 如维生素 E、胡萝卜素、巯基化合物等; 第三道防线是利用 DNA 和蛋白质的修复、蛋白质巯基的还原、黏膜 ATP 的恢复及细胞内 Ca²⁺ 的减少来拮抗氧自由基。巯基物质是体内重要的非酶类氧自由基清除剂。分为非蛋白巯基物质和蛋白巯基物质。巯基物质可以直接或间接与氧自由基和活性亲电子物质反应, 具有细胞保护作用。非蛋白巯基物质的氧化先于蛋白巯基物质氧化, 前者明显地保护了后者可维持细胞骨架的完整, 维护细胞的结构与功能, 并有

作者简介: 郭 喆, 女, 1959 年出生。本科学历, 副主任药师, 科主任。主要从事临床药学和药事管理工作。

解毒作用。急性胰腺炎时巯基物质明显减少,氧自由基激发的巯基物质代谢增快、消耗过多及合成不足。谷胱甘肽和硫普罗宁是已经用于临床的含非蛋白巯基物质的制剂,可通过清除氧自由基来治疗急性胰腺炎。生长抑素制剂可使血清和胰腺组织氧自由基代谢产物浓度减低,胰腺损伤减轻。

2.3 氧自由基炎性肠病 Kruidenier 等^[6]报道,在炎性肠病中有反应性氧代谢变化,存在继发性黏膜抗氧化反应失衡,炎症上皮 Mn-SOD 上调,肠炎与 CAT、GPO、MPO 活性增加有关,黏膜 GSH 含量未受影响,MT 浓度下降。氧应激可导致炎症调节因子的释放,如 TNF- α 、IL-8、IL-1 和 NO,并提高致炎基因的表达。已有报道在炎性肠病患者和实验性肠炎中包括谷胱甘肽在内的抗氧化物水平降低。近年来,对炎性肠病的黏膜抗氧化反应的研究中发现,炎性肠病黏膜中初级抗氧化酶-超氧化物歧化酶和次级抗氧化酶-过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化酶的比例不平衡,以及内源性抗氧化反应的效率低下,可能是炎性肠病的发病和炎症过程持续存在的原因。谷胱甘肽对于维持胃肠道结构和功能的完整性有重要作用,谷胱甘肽缺乏的小鼠出现空肠和结肠谷胱甘肽黏膜的严重退化,并出现体重下降和腹泻。口服含混合成分的氨基酸可有效增加胃肠道黏膜的谷胱甘肽水平^[6]。

3 含硫抗氧化剂

含硫氨基酸甲硫氨酸和半胱氨酸的代谢与人体健康和细胞功能密切相关,消化道在食物氨基酸代谢和维护人体营养方面起重要作用。成人稳定同核素方法研究表明,内脏组织可利用食物中甲硫氨酸和半胱氨酸的 30%~44%。食物半胱氨酸作为谷胱甘肽的前体在小肠上皮抗氧化功能方面起关键作用。半胱氨酸和谷胱甘肽也可能经改变氧化还原状态调节上皮细胞增殖^[7]。硫是结合到氨基酸、蛋白质和其他生物分子中的必需元素,硫原子也是含铁黄素酶中的重要元素。人体不能象植物那样利用无机硫合成含硫氨基酸,故植物是重要的硫源。含硫的化合物存在于所有的细胞,所以它对于生命是必不可少的。含硫抗氧化剂包括谷胱甘肽、巯基丙酰基甘氨酸、N-乙酰基半胱氨酸等。由于它们呈很强的还原性,故有很强的抗氧化作用,大量的硫元素决定了与一些抗氧化酶有关的谷胱甘肽的调节作用。

3.1 还原型谷胱甘肽 谷胱甘肽是独特的含硫三肽,其化学结构中含有巯基,具有很强的亲和力,能够与多各化学物和代谢产物(如 OFR、亲电子基等)结合,有广泛的抗氧化作用^[8]。它改变细胞对与反应性氧物质有关的氧化还原反应,祛除药物代谢毒性;调节基因表达及细胞凋亡和有机溶液的跨膜转运。已发现 GSH 代谢关键酶的多态性,等位基因与氧化还原缓冲系统损害引起的疾病有关,对缺血更为敏感。针对这些特点,促使人们研究相关疾病状态的防治方法^[9]。谷胱甘肽是含巯基的非蛋白质化合物是细胞中重要的抗氧化剂,对过氧化物造成的黏膜损伤有保护作用。动物实验表明,谷胱甘肽前体可防御各种不同类型的自由基介导的细胞损伤。有越来越多的动物实验证据表明,谷胱甘肽体内转化

系统对于癌症发病有防御作用。谷胱甘肽转硫酶(GST)在胃肠道黏膜活性与相应的肿瘤(如结肠癌)发病率之间密切相关。其低活性与肿瘤高发率相关,高活性与肿瘤低发病率相关。多吃蔬菜和水果结肠癌发病危险性减低,研究表明蔬菜的成分能诱导结肠谷胱甘肽去毒作用,能减低结肠癌发病的危险。

3.2 硫普罗宁 硫普罗宁含 N-(2-巯基丙酰基)-甘氨酸,与谷胱甘肽结构类似,其抗氧化作用主要通过四个途径:(1)清除巨噬细胞呼吸爆发产生的各种有害氧自由基和过氧亚硝基;(2)含巯基能维持体内谷胱甘肽平衡;(3)调节体内抗氧化酶体系,增强机体抗氧化能力,如明显提高 SOD 活性,从而减低脂质过氧化;(4)螯合金属离子,如铁离子本身就具有未成对电子,可参与同氧分子转移反应,超氧阴离子自由基可歧化生成过氧化氢,相继可发生 Fenton 反应生成羟自由基,进一步在细胞膜发生脂质过氧化,而硫普罗林螯合金属离子即可减少脂质过氧化损伤。

3.3 N-乙酰基半胱氨酸 N-乙酰基半胱氨酸(NAC)是一种新型抗氧化剂,能够提高细胞内还原型谷胱甘肽及过氧化氢酶、SOD、谷胱甘肽过氧化物酶等的含量,抑制白细胞的呼吸爆发及 TNF- α 的释放和作用,从而具有清除自由基、保护细胞的作用^[10]。N-乙酰基半胱氨酸易进入细胞内促进细胞合成、分泌 GSH。有研究表明,用流式细胞仪检测氧自由基,预先给予 NAC 可减少胰腺腺泡 GSH 消耗,能防止氧自由基产生从而保护胰腺不发生萎缩。N-乙酰基半胱氨酸对烧伤后肠氧应激和细菌易位的作用。在大面积烧伤后,因一过性内脏血管收缩引起的肠缺血性再灌注后导致肠黏膜氧应激和过氧硝化作用,造成黏膜屏障破坏,可致细菌易位,GSH 明显降低,MDA 和 MPO 明显升高。预先用 N-乙酰基半胱氨酸处理,可起关键性细胞保护作用,并阻断细菌易位和肠损伤的连锁反应,从而避免败血症的发生。应用 NAC 可增加细胞内硫醇的水平,可以削弱氧化剂或细胞因子介导的嗜中性粒细胞与内皮细胞的粘附。炎症反应的标志是细胞因子基因表达产生的,受氧敏感转录因子,即核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) 调控,上调腺泡炎症因子,NAC 及 SOD 两者抑制中性粒细胞诱导胰腺腺泡的变化。NAC 通过抑制 NF- κ B 介导的氧活性和降低细胞因子产物是临床上有用的抗氧化抗炎制剂^[11],包括 N-乙酰基半胱氨酸、硒、维生素 E、维生素 C 和 SOD 等^[12]。有充分证据表明,NAC 在防止 DNA 损伤和癌相关因素方面有良好的作用^[13]。谷胱甘肽、N-乙酰基半胱氨酸干扰 HIV 病毒活性和 CD4 细胞死亡。L-glutamine 可提高谷胱甘肽水平及增加患者的营养,从而抑制病毒造成的肌肉神经细胞线粒体腺苷类似物的反转录损害^[14]。

3.4 生长抑素 实验研究表明,生长抑素可维持 GSH 还原酶活性,防止其减少,有助于清除氧自由基,减轻肠道黏膜脂质过氧化。有研究报道,生长抑素类似物和维生素 C 对实验性大鼠缺血性再灌注损伤具有黏膜屏障保护作用。腹腔内注射维生素 C(350 mg/kg)和生长抑素(20 μ g/kg),应用该二

剂的干预组,肠道细菌易位率为 43%,对照组为 100%^[15]。生长抑素在实验性应激性溃疡的发病研究中,凸现良好的黏膜细胞保护作用,是因为其内含的非蛋白巯基抗氧自由基的作用^[16]。

3.5 超氧化物歧化酶 超氧化物歧化酶(SOD)属金属酶类(Cu/Zn-SOD、Mn-SOD),可减轻缺血后再灌注,酒精、阿司匹林所致胃黏膜损害,具有抗炎、抗辐射、预防衰老作用。

参考文献

[1] Townsend DM, Tew KD, Tapiero H. Sulfur containing amino acids and human disease. *Bionmed Pharmacother*, 2004, 58(1):47

[2] Biasetti M, Dswson R JR. Effects of suffer containing amino acids on iron and nitric oxide stimulated catecholamine oxidation. *Amion Acids*, 2002, 22(4):351

[3] 李春艳,刘丽娜,吕申等.一氧化氮、内皮素及氧自由基对大鼠酒精性胃损害的作用研究. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2000, 9(1):14

[4] 汪艳娟,王行宽,胡国恒等.止血愈疡颗粒对幽门结扎型胃溃疡大鼠氧自由基参数的影响. *中国中西医结合消化杂志*, 2002, 10(4):206

[5] Verhulst ML, Hopman WP, Peters WH *et al*. Effects of *Helicobacter pylori* infection on endocrine and exocrine mucosal function in the upper gastrointestinal tract. *Scand J Gastroenterol*, 2000, suppl(232):21

[6] Knudsen L, Kuiper I, Van Duijn W *et al*. Imbalanced secondary mucosal antioxidant response in inflammatory bowel disease. *J Pathol*, 2003, 201(1):17

[7] Atmaca G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei Med J*, 2004, 45(5):776

[8] 郝云龙,闻勤生,胡贤主等.谷胱甘肽对肝缺血再灌注损伤细胞因子的影响. *武警医学*, 2003, 14(2):70

[9] Jefferies H, Coster J, Khalil A *et al*. Glutathione. *ANZ J Surg*, 2003, 73(7):517

[10] 罗有同,肖昕. N-乙酰基半胱氨酸对缺氧缺血性脑病新生鼠脑细胞凋亡的干预效果. *武警医学*, 2004, 15(9):675

[11] Kim H, Seo JY, Kim KH. NF-kappaB and cytokines in pancreatic acinar cells. *J Korean Med Sci*, 2000, 15(Suppl):53

[12] De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F *et al*. Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. *Carcinogenesis*, 2001, 22(7):999

[13] Bulger EM, Maier RV. Antioxidants in critical illness. *Arch Surg*, 2001, 136(10):1201

[14] Biewenga GP, Haenen GR, Bast A. Lipoic acid is an example of an existing drug whose therapeutic effect has been related to its antioxidant activity. *Gen Pharmacol*, 1997, 29(3):315

[15] Rezk BM, Haenen GR, van der Vijgh WJ *et al*. Lipoic acid protects efficiently only against a specific form of peroxynitrite-induced damage. *J Biol Chem*, 2004, 279(11):9693

[16] Thirunavukkarasu V, Anuradha CV. Influence of alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant defence system in blood of insulin-resistant rats. *Diabetes Obes Metab*, 2004, 6(3):200

(2005-12-14 收稿,责任编辑 张柏林)

鱼精蛋白毒性反应的防治

邱立成¹ 王奇¹ 石海燕¹ 综述 任群² 审校
 医院心胸外科,天津 300192)

(¹ 武警总医院心外科,北京 100039; ² 天津市第一中心

关键词 鱼精蛋白毒性反应 预防 治疗

鱼精蛋白自 1868 年首次被 Friedrick Miescher 发现以来,至今已有 130 多年的历史,广泛应用于多方领域:心外科体外循环(Extracorporeal circulation, ECC)及心导管检查术中中和肝素, NPH-胰岛素(Neutral Protamine Hagedron insulin)的商品生产以延缓胰岛素的吸收等。但其所引起的毒性反应也日益引起医学工作者的重视。成年人鱼精蛋白不良反应发生率约为 3.8%~6%,儿童约为 2.88%^[1]。尽管如此,鱼精蛋白仍是现在临床上中和肝素的主要试剂。在 1985 年, Weiter 就提出“是否需要寻找鱼精蛋白的替代品?”; 1990 年《Circulation》杂志刊登了题为“鱼精蛋白中和肝素:该改变了么?”的文章^[2],最后的结论是:“尽管它有严重毒性反应,鱼精蛋白仍是体外循环后中和肝素的唯一选择”。近年来医学工作者

对鱼精蛋白毒性反应及其机制、防治方法进行了许多研究,现综述如下。

1 鱼精蛋白的历史及生物化学

Friedrick Miescher 在 1868 年观察细胞核的研究中,发现有一种含氮的碱性物结合在蛙鱼精子头的核质中,他将其命名为鱼精蛋白。接下来, Kossel 等研究证实,这个复合物乃是蛋白质。在那个年代所研究的蛋白质中,鱼精蛋白被认为含有最简单的氨基酸组成。以鱼精蛋白为模型, Meischer 和他的助手们建立了蛋白质的化学结构模型。

鱼精蛋白是一种富含精氨酸(大约 67%)的多阳离子、强碱性多肽。在脊椎动物精子形成过程中,它与 DNA 分子中含阴离子的磷酸根结合,形成核鱼精蛋白。人类精子中的鱼精蛋白可分为 P₁、P_{2a}、P_{2b} 三种不同类型。商品鱼精蛋白是从雄蛙鱼的生殖腺中提取出来的,分子量为 4 500D。鱼精蛋白

作者简介:邱立成,男,1973 年出生。硕士研究生学历,主治医师。主要从事心血管外科疾病的诊治工作。