

硒 - 谷胱甘肽过氧化物酶在脑抗氧化损伤中的研究进展

耿义群 综述 苏 敏 徐小虎 审校

摘 要 硒是人体必需的微量元素之一, 硒半胱氨酸是谷胱甘肽过氧化物酶的活性中心, 脑内的谷胱甘肽过氧化物酶通过多种途径, 不同机制清除脑内的氧化代谢产物, 谷胱甘肽过氧化物酶减少和活性降低可能与脑智力发育障碍、大脑缺血缺氧损伤、神经变性疾病及重金属中毒的发生有关, 因此提高脑内谷胱甘肽过氧化物酶的浓度可能能够防止脑细胞受到氧化损伤, 保护大脑功能。

关键词 谷胱甘肽过氧化物酶 氧化应激 脑

中图分类号: R3382

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 351X(2004)03 - 0239 - 02

脑细胞处于旺盛的代谢状态, 在代谢过程中不断产生氧自由基, 活性氧, 过氧化物等代谢中间产物, 加上脑细胞膜富含不饱和脂肪酸, 很容易产生脂质过氧化物, 要靠抗氧化酶来清除, 使氧化代谢产物维持在较低的水平, 保护脑细胞免受氧化损伤的威胁。脑内存在的抗氧化酶为数不多, 活性也有限, 在正常情况下, 脑内的过氧化物的产生和清除处于动态平衡状态, 在病理情况下, 如缺氧缺血, 过氧化物产生过多和(或)抗氧化酶数量和活性降低时, 脑内的氧化 - 抗氧化平衡被破坏, 将引起一系列病理生理改变。

硒作为人体必需的微量元素, 参与构成了多种抗氧化酶的活性中心, 如谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPX)、硫氧还蛋白还原酶等, 并在体内的抗氧化过程中发挥重要作用。硒在脑内较在其他器官内的代谢慢, 受硒摄入量的波动小于其他组织, 提示硒在维持脑的正常功能中起重要作用。脑内主要的抗氧化含硒酶是谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX), GPX 通过活性中心的硒半胱氨酸与氧化代谢产物发生接触反应, 发挥其抗氧化功能。半胱氨酸被氧化为半胱次磺酸或二硫化物, 再由硫氧还蛋白还原酶还原成半胱氨酸, 保持 GPX 的还原活性。值得注意的是, 在氧化应激情况下, GPX 的活性中心容易被过氧化为亚磺酸甚至磺酸, 此时即使在硫氧还蛋白还原酶作用下也不能恢复 GPX 的还原活性^[1], 因此维持 GPX 在脑内的含量和活性, 在脑的抗氧化损伤中具有非常重要的意义。

一、GPX 的类型及分布

GPX 在哺乳动物体内至少含有五种亚型: 细胞型 (GPX1)、胃肠型 (GPX2)、细胞外型 (GPX3)、磷脂过氧化氢型 (GPX4), 以上均是含硒酶, 还有一种存在于晶状体内不含硒的 GPX。硒在体内大部分是以细胞型谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX1) 的形式存在, 在脑内主要的 GPX 成员是 GPX1、GPX4, 受硒摄入量的影响。

GPX 在细胞内主要位于线粒体和胞浆, 成年鼠脑内网状丘脑和红核含量最高, 其次是大脑皮层、齿状回, 再次是尾状核、海马、下丘脑, 其中胆碱能神经元和多巴胺能神经元表达量低,

而儿茶酚胺能神经元含量很高, 小脑、皮质、下丘脑和海马受硒的摄入量影响较大^[2], 大鼠的大脑皮质, 海马和小脑的神经元中的 GPX 的含量较高, 活性也较强。胶质细胞的 GPX 比在神经元的活性强 10 倍。

二、GPX 的主要作用机制

1、清除氧化代谢产物

活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 是细胞产生的正常代谢产物, ROS 是诱导细胞凋亡的重要因素。ROS 是指一系列 O₂ - 产物, 正常情况下由于清除其产物的酶及时作用, 使 ROS 维持在小于 1% 的水平, 当 ROS 超过正常水平, ROS 不仅破坏细胞膜, 还能够直接破坏线粒体膜, 使线粒体膜通透性增加, 细胞色素 c 释放, 并影响电子传递, 引起细胞能量代谢障碍, 加重细胞受损。GPX 能够及时将 H₂O₂ 转化成 H₂O 和氧, 阻止 OH 的产生, 防止对细胞进一步的危害; 在 GPX 作用下, 脂质过氧化物转化为较为稳定的羟基化合物 (ROH), 阻断了脂质过氧化的自由基链式反应^[3]。

2、维持谷胱甘肽活性

谷胱甘肽 (GSH) 系统是细胞内重要的抗氧化系统, 尤其对细胞抵抗 ROS 的侵害起重要作用。GSH 需要 GPX 维持活性, GPX 接受 GSH 被氧化时产生的氢离子将过氧化物还原, GSH 被氧化为 GSSG, GSSG 又在谷胱甘肽还原酶的作用下, 由 NADPH 提供电子被还原成 GSH, 保持 GSH 处于还原状态。GSH 在不同的细胞类型中分布有所不同, 表现为不同种类的细胞抗氧化能力的差别。由于缺乏合成 GSH 的原料, 神经元的 GSH 含量和 GPX 含量低于星形胶质细胞、微神经胶质细胞和少突胶质细胞^[4], 抗氧化能力较低, 因此在同样的氧化应激环境下神经元较其他细胞更容易受损。在星形胶质细胞和神经元的共同培养中, 星形胶质细胞能够增强神经元对 ROS 的抵御能力^[5], 可能是由于星形胶质细胞向神经元提供合成谷胱甘肽的原料半胱氨酸的前体^[6]。星形胶质细胞、少突胶质细胞不仅对神经元有支持营养作用, 可能更重要的是通过对其输送抗氧化物或原料保护其功能。

三、GPX 对脑的抗氧化损伤作用

1、GPX 对发育期脑的保护作用

在孕早期胎儿及新生儿期是大脑发育的关键时期, 硒可以

作者单位: 515031 广东汕头市汕头大学医学院法医病理教研室 (耿义群在读硕士)

促进神经细胞突起生长,发育期缺硒可致大脑神经元、胶质细胞的突起生长长度较正常短, BDNF 的 mRNA 的表达量减少,智力发育障碍,其可能的机制有二:一是硒对脑的直接影响,正常鼠脑中 H_2O_2 、脂质过氧化物出生后第一、两周含量较低,第三周时产生量迅速增加, GPX、脱氢酶在此期间活性也增强,此时如果缺乏硒的摄入,抗氧化酶活性就降低,由于氧化代谢旺盛,极易造成脑细胞损伤。二是硒对甲状腺的影响间接影响脑发育,甲状腺素是脑发育的关键因素之一,在正常的甲状腺中含有较高浓度的硒,缺硒所致的甲状腺中 GPX 减少,过多的 H_2O_2 使甲状腺细胞受损,同时脱碘酶 I、II 缺乏都会使甲状腺功能低下,严重影响智力的发育。脑发育期由于缺硒引起的智力障碍将引起终身的脑功能障碍,因此在孕早期及新生儿期补充硒对大脑的发育尤其重要。

2. 脑缺血缺氧时 GPX 对脑功能的保护作用

大脑缺血缺氧是较常见的氧化-抗氧化系统失衡的情况之一,抗氧化系统来不及清除短期内迅速增加的大量氧化产物 ROS 等, GPX 大量消耗活性降低,容易造成脑功能的急性损伤。正常成年人在缺血缺氧引起的大脑皮质、背侧丘脑、海马 GPX 的下降可在 24h 内恢复,只引起短暂的功能损伤^[8]。缺硒动物脑内缺乏 GPX 储备,引起的功能损伤难以在短期内恢复正常,尤其发育期脑的脂质过氧化物的含量更高^[9],并且此时胚胎脑内的抗氧化系统还未发育完善,更容易受损。海马是对缺血缺氧比较敏感的部位,容易由于 ROS 的作用而细胞凋亡,引起学习记忆功能下降。核转录因子 CREB (cAMP 结合蛋白反应元件)是决定细胞生存的关键性因素之一,同时也是在长时记忆产生过程中必不可少的中间环节。在氧化应激的环境下,海马神经元的核转录因子 CREB 活性降低,其下游抗凋亡基因 bcl-2 的表达下调,神经元凋亡数量增加,在慢性氧应激作用下 CREB 的含量也减少^[10],因此在缺血缺氧时,可能是通过 CREB 含量和活性的下调引起的学习记忆功能下降。GPX 参与调节凋亡的过程,有研究表明机体缺乏 GPX 时,在氧化应激情况下,会引起凋亡过程关键性酶之一 caspases-3 的活化,从而引发凋亡的产生^[10]。神经元钙离子内流是引起海马神经元损伤的重要基础,氧自由基可以引起谷氨酸能神经元 NMDAR 活化,大量钙离子内流,兴奋性毒性引起神经元损伤, GPX 通过抑制 NMDA 受体的活化,保护细胞。降低 GPX 的活性减少 GSH 含量, GSH 减少也能使海马的突触可塑性降低,海马突触传递减少,影响学习记忆功能^[11]。补充硒能够减少兴奋性毒性引起的海马神经元死亡, GPX 对氧自由基引起海马突触传递减少有恢复作用,减少细胞凋亡^[12,13],从而在脑缺氧情况下对海马的学习记忆的损伤起到保护作用^[14]。

3. GPX 与神经退行性疾病

神经的退行性变是多因素作用下复杂的病理过程,引起一系列大脑功能障碍的症状,如记忆力下降,共济失调等症状并呈进行性加重。研究发现衰老及多种神经变性疾病如 Parkinson 病、Alzheimer 病 Huntington 病^[15]等,与脑内的氧化状态改变有关。衰老脑内的 ROS、脂质过氧化物升高, Se、GPX、GSH 等抗氧化物都有不同程度的下降^[16],但抗氧化酶的种类

和在脑内不同区域的变化并不平衡^[17],可能正是由于这种不平衡变化导致不同种类的神经退行性疾病的发生。Alzheimer 病的海马和顶叶的神经纤维团和老年斑区域的脂质过氧化程度较高,抗氧化物 GPX 等反应性升高,表明 Alzheimer 病的发病可能与脑局部区域的氧化-抗氧化平衡失调有关。黑质抗氧化酶的含量较周围其他部位高,提示此处可能因对氧化应激比较敏感,需较多抗氧化酶保护细胞功能^[8]。Parkinson 病人的黑质多巴胺神经元 GPX 明显减少^[19]可能是致病原因之一,增加硒的摄入量能够明显提高抗氧化物浓度,减少多巴胺神经元的丢失,黑质功能能够恢复至接近正常水平^[20]。神经退行性变和衰老的脑内有硒水平偏低及 ROS 和脂质过氧化物的增加,可能与 GPX 的抗氧化能力下降有关^[21,22],因此提高脑内 GPX 浓度对于防治神经退行性疾病具有积极作用。

4. GPX 的对抗重金属的毒性作用

长期接触铅、铝、汞等重金属,在脑内蓄积,破坏脑内的氧化-抗氧化平衡, ROS 增高,降低大脑的基因转录和蛋白合成,抑制 GPX 活性,脂质氧化水平升高,产生神经毒性症状。铅抑制脑内的琥珀酸脱氢酶,乙酰胆碱酶和 Na + K + ATP 酶的活性,脂质过氧化物升高。硒能够明显提高这三种酶的活性, Vitamin C、E 虽能减少脂质的产生,但不能提高 GPX 活性,不能减轻中毒症状。补充大脑的硒含量能够减轻铅引起基因转录和蛋白合成的改变,中毒症状缓解,可能是 GPX 能够直接对抗重金属的毒性作用^[23]。

四、结语

如今增进机体的抗氧化能力,尤其是提高大脑的认知能力,防治老年性疾病,提高人们生活质量的的研究已成为研究热点。GPX 是体内为数不多的抗氧化酶之一,在清除脑内氧化代谢产物方面起着重要作用,摄入硒能够直接提高脑内的 GPX 含量。在氧化代谢产物大量增加、抗氧化酶大量消耗时,或随着年龄的增长抗氧化酶的活性降低,体内的氧化和抗氧化平衡被破坏,此时补充体内硒的含量,可增强大脑的抗氧化能力,用来防治急性慢性脑功能损伤及老年性疾病将是一条安全方便的途径。目前人们已开始尝试在慢性神经变性疾病动物模型的防治中通过补充硒^[24,25]提高 GPX 活性。国内外正在研究具有 GPX 活性的药物,研究克服天然 GPX 来源有限及代谢半衰期短等缺点,增加 GPX 的靶向性和持久性。

参 考 文 献

- 1 Mireille Chevallet, Elsa Wagner, Sylvie Luche, et al. J. Biol. Chem., 2003, 10: 1074 ~ 1106.
- 2 MN Bou - Resli, TC Mathew, HM Dashti, NS Al - Zaid et al. Anat. Histol Embryol., 2002, 31(4): 228 ~ 31.
- 3 Simonetta Camandola, Giuseppe Poli, Mark P. Mattson et al. Journal of Neurochemistry. 2000, 74(1): 159 ~ 168
- 4 Johannes Hirrlinger, J? rg K? nig. Journal of Neurochemistry. 2001, 76(2): 627 ~ 636
- 5 Ralf Dringen, Jan M Gutterer and Johannes Hirrlinger. Eur. J. Biochem. 2000, 267: 4912 ~ 4916

(下转第 231 页)

影象的活动通过反射性眼运动以固定视标在网膜上的景象。其传入途径由视网膜通过视觉途径传入枕叶视中枢。其传出途径与视动性眼震的慢相途径相似,即从枕叶向前,在视放射后份之深部,通过大脑脚到中脑顶盖前区集中,下行到第Ⅲ、Ⅳ脑神经核之间交叉至对侧,继续下行终于脑桥外展神经核附近网状结构中之水平凝视中心,再与动眼的神经诸核连系。

近年来,随着 fMRI 的研究深入,人们对视跟踪运动的神经通路有了进一步的了解^[3,4,5]。枕叶初级视皮层、额叶眼区、顶后皮层、颞中回、颞中上回、枕颞外侧皮层、岛叶、丘脑、基底节均参与了上述活动,并有纤维投射到脑桥背外侧核、脑桥被盖部网状核及脑干的眼球运动核团,此外,尚有来自小脑的纤维加入调节。

鉴于视跟踪运动产生的复杂解剖结构,在临床上小脑、脑干、大脑皮层及皮层下区病变均可产生视跟踪试验的异常:小脑病变表现为阶梯样波型或锯齿型,曲线粗糙(Ⅲ型);脑干、大脑皮层及皮层下区病变表现为波型完全紊乱(Ⅳ型)。

视跟踪试验的异常对中枢性眩晕病的诊断及定位有着重要意义。而视跟踪运动的产生不受其复杂的解剖结构影响,而且年龄的影响也是非常重要的,本文重点对后者进行了研究。由表 1 可以看出,两种试验条件下,随着年龄的增长,增益值逐渐减小,失真度逐渐

加大。Kanayama R 等在研究中也同样的发现^[6],他们认为大脑和(或)小脑的萎缩是最可能的原因。

伴随着老化的发生,大脑皮层萎缩,小脑 Purkinje 细胞丧失以及黑质、纹状体通路上的神经元丢失,可能导致了老年人相应参数的指标的下降。

综上所述,视跟踪试验的产生,不但有其复杂的解剖通路,本研究还提示了年龄因素对其的影响,故当评估试验结果时应结合患者的年龄进行综合分析。

参 考 文 献

- 1 陈清棠,主编. 临床神经病学. 北京:科学技术出版社,2000:13~14
 - 2 Kato I, Watanabe J, Nakamura K, et al. Mapping of brainstem lesions by the combined use of tests of visually-induced eye movements. *Brain*, 1990, 113:921~935
 - 3 Barton JJS, Simpson T, Kiriakopoulos E, et al. Functional MRI of lateral occipitotemporal cortex during pursuit and motion perception. *Ann Neurol* 1996, 40:387~398
 - 4 Tootell RBH, Reppas JB, Kwong KK, et al. Functional areas using magnetic resonance imaging. *J Neurosci*, 1995, 15:3215~3230
 - 5 Keating EG. Frontal eye field lesions impair predictive and visually-guided pursuit eye movements. *Exp Brain Res*, 1991, 86:311~323
 - 6 Kanayama R, Nakamura T, Samo R, et al. Effect of aging on smooth pursuit eye movements. *Acta Otolaryngol (stockh)*, 1994, Suppl 511:131~134
(2004-2-24 收稿)
-
- 15 Abel Santamaría, Raquel Salvatierra - Sánchez, Beatriz Vázquez - Román, et al. *Journal of Neurochemistry*. 2003, 86(2):479~488
 - 16 A Gossiau and L Rensing. *Z Gerontol Geriatr*, 2002, 35(2): 139~50.
 - 17 BP Vohra, SP Sharma, and VK Kansal. *Indian J Biochem Biophys*. 2001, 38(5): 321~6.
 - 18 Grazyna Kunikowska and Peter Jenner. *Biochemical Pharmacology*. 2002, 63(6): 1159~1164.
 - 19 G Kunikowska and P Jenner. *Brain Res*. 2003, 968(2): 206~18.
 - 20 Khan Shoeb Zafar, Almas Siddiqui, Iqbal Sayeed, et al. *Journal of Neurochemistry*. 2003, 84(3):438~446
 - 21 D Benton. *Nutr Neurosci*. 2002, 5(6): 363~74.
 - 22 Ruolan Liu, Ingrid Y. Liu. *Nutr Neurosci*. 2002, 5(6): 363~74.
 - 23 Khan Shoeb Zafar, Almas Siddiqui, Iqbal Sayeed, et al. *J. Neurochem*. 2003, 84: 438~446
 - 24 Matthias L. Jauslin, Thomas Meier, Fabrice Schoumacher, et al. *Human. Molecular Genetics*. 2002, 11(24): 3055~3063
 - 25 K Pong. *Expert Opin Biol Ther*. 2003, 3(1): 127~39.
(2003-9-6 收稿)

(上接第 240 页)

- 6 Ralf Dringen, Brigitte Pfeiffer, and Bernd Hamprecht. *The Journal of Neuroscience*. 1999, 19(2):562~569
- 7 P Fan, T Yamauchi, LJ Noble, and DM Ferriero. *J Neurotrauma*. 2003, 20(5): 437~45.
- 8 Q Cao, WY Ong, and B Halliwell. *Exp Brain Res*, 2001, 137(2): 205~13.
- 9 Subbiah Pugazhenti, Albina Nesterova, Jane E. - B et al. *Journal of Neurochemistry*. 2003, 84(5):982~996
- 10 Peter J. Crack, Juliet M. Taylor, et al. *Journal of Neurochemistry*. 2001, 78, 1389~1399
- 11 R. Cruz, W. Almaguer - Melian, J. A. Bergado - Rosado et al. *Rev Neurol*. May 2003, 36(9): 877~886.
- 12 N Ishibashi, O Prokopenko, M Weisbrot - Lefkowitz, et al. *Brain Res Mol Brain Res*. 2002, 109(1-2): 34~44
- 13 PJ Crack, JM Taylor, JB de Haan, et al. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2003, 23(1):19~22.
- 14 Denis Furling, Othman Ghribi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000, 97(8): 4351~4356.