

王莉萍,孙祖越. 抗氧化剂拮抗子宫内位症的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 131-135.

Wang LP, Sun ZY. Progress in research on the effects of antioxidants on endometriosis [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(10): 131-135.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.023

抗氧化剂拮抗子宫内位症的研究进展

王莉萍^{1,2,3}, 孙祖越^{1,2,3*}

(1. 上海市计划生育科学研究所药理毒理学研究室, 中国生育调节药物毒理检测中心; 2. 复旦大学生殖与发育研究院; 3. 国家人口和计划生育委员会计划生育药具重点实验室, 上海 200032)

【摘要】 子宫内位症(endometriosis, EMT)是临床上较常见的一种良性、慢性妇科疾病。抗氧化剂因其抗氧化、抗炎、抗衰老等功效广泛用作治疗药品和保健品。据报道,抗氧化剂可从抗氧化物质和氧化物质水平、异位内膜组织体积、炎症因子水平、新血管形成和细胞凋亡等方面拮抗 EMT,这可为 EMT 的治疗提供新思路,但其确切的作用效果及其作用机制仍有待进一步的深入研究。

【关键词】 抗氧化剂; 子宫内位症; 氧化应激

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 10-0131-05

Progress in research on the effects of antioxidants on endometriosis

WANG Liping^{1,2,3}, SUN Zuyue^{1,2,3*}

(1. Department of Pharmacology and Toxicology, Shanghai Institute of Planned Parenthood Research, National Evaluation Center for Toxicology of Fertility Regulating Drugs; 2. Reproductive and Developmental Research Institute of Fudan University; 3. Key Laboratory of Reproduction Regulation of NPFPC, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Endometriosis is a benign, chronic, and common gynecologic disease in the clinical setting. Antioxidants have been applied as drugs and health care products because of their antioxidant, anti-inflammatory, and anti-aging properties. The antagonistic effects of antioxidants on endometriosis can reportedly be assessed by measurement of the total antioxidant status and total oxidant status, volumes of endometriotic tissues, levels of inflammatory cytokines, neovascularization, apoptosis, and other parameters, which might lead to the establishment of a novel treatment for endometriosis. However, further studies are needed to determine the exact effects and mechanisms.

【Keywords】 antioxidants; endometriosis; oxidative stress

子宫内位症(endometriosis, EMT)是临床上常见的妇科疑难病症之一。尽管其发病机制尚未明确,但有研究提示 EMT 与活性氧(reactive oxygen species, ROS)和抗氧化物质之间的失衡相关^[1]。抗

氧化剂因其抗氧化、抗炎和抗衰老等功效而广受关注^[2-3]。近些年,有关抗氧化剂拮抗 EMT 方面的研究也已陆续开展。本文对抗氧化剂拮抗 EMT 的研究进行综述,为 EMT 治疗提示新思路。

【基金项目】“重大新药创制”科技重大专项“十三五”计划(2018ZX09201017-002);上海市科委研发平台专项(17DZ2293600);上海市“科技创新行动计划”实验动物研究项目(17140900801)。

【作者简介】王莉萍(1984—),女,博士,助理研究员,研究方向:生殖药理毒理学。E-mail: lpwang66@163.com

【通信作者】孙祖越(1964—),男,博士,研究员,博士生导师,研究方向:生殖药理毒理学。E-mail: sunzy64@163.com

1 氧化应激

自由基一般是指在光或热等外界条件下, 化学物分子的共价键发生均匀裂解所产生的带有不成对电子的基团或原子。且其因不成对电子的存在而有着强氧化作用。氧化应激 (oxidative stress) 则可认为是机体内氧化物质 (如氧自由基) 的浓度升高或抗氧化物质的能力下降, 所引发的氧化损伤。氧化的过程中还可产生如炎性细胞浸润和酶类分泌增加等一系列中间产物。一般超氧阴离子、过氧化氢、羟自由基和单线态氧等都可认为是具有氧化损伤意义的自由基。在正常生理状态下, 氧自由基可杀灭外来的细菌及病原, 有助于吞噬细胞将其吞噬, 可对机体自身的防御起到一定的作用。然而, 当机体内氧自由基蓄积过多时, 则可使机体细胞的生物膜发生脂质过氧化从而累及其结构和功能, 导致生物膜受损。此外, 氧自由基的过多蓄积还可累及机体内的蛋白质和 DNA 等, 使其功能受损或导致其结构的破坏。已有研究证实, 许多重要的疾病如 EMT、帕金森病、糖尿病等的发生或发展均与氧化应激相关^[1, 4]。

2 EMT 与氧化应激

子宫内膜的基质及腺体出现在子宫腔以外的其他部位, 如卵巢、腹膜、直肠阴道隔及输卵管等处, 则称之为 EMT。EMT 虽被认为是一种良性的妇科疾病, 但其所引起的盆腔痛、痛经和不孕等症状很大程度上对患有该病的育龄女性造成了困扰和影响^[5]。据统计, 约有 10% 的育龄女性被诊断为 EMT, 且其中有不少患者出现的原发和继发不孕均可能与此病相关^[6-7]。尽管目前 EMT 确切的发病机理尚未明确, 但仍早有研究人员或学者提出了一些重要的相关理论, 如经血逆流 (retrograde menstruation)、体腔化生 (coelomic metaplasia) 和免疫改变 (altered immunity) 等。现代研究表明, 氧化应激在 EMT 的发生和发展中也起了不容忽视的作用^[8]。

近年来, EMT 与氧化应激之间的相关性, 以及其与过量 ROS 生成之间的联系也逐渐被关注并深入研究。正如肿瘤细胞增殖率的升高与 ROS 的生成增多相关, 在异位内膜细胞中也如是^[9]。EMT 患者腹腔液中的铁、铁蛋白和血红蛋白的含量较正常女性更高^[10]。其中, 铁可作为催化剂参与 Fenton 反

应 ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}$), 产生过量的 ROS 导致细胞的氧化损伤。氧化应激则可使腹膜间皮局灶性的损伤诱导异位内膜细胞的黏附^[11]。

此外, 子宫内膜异位灶的反复出血也可导致 ROS 增多, 且 EMT 患者自身的抗氧化物质合成减少, 也都提示了氧化应激与该病的发生和发展相关^[12-13]。

3 抗氧化剂与 EMT

抗氧化剂 (antioxidant) 是一类能有效阻止或减缓易氧化生物分子如脂质、蛋白质和 DNA 等发生自动氧化的物质, 且其在较低浓度时即可起效。机体可通过自身的一些机制合成抗氧化剂, 也可从外界的食物或补充剂等获取抗氧化剂, 两者均可有效防止活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 所致的氧化损伤, 从而增强机体的免疫防御及降低患病风险。抗氧化剂主要可分为两大类: 酶类抗氧化剂和非酶类抗氧化剂。酶类抗氧化剂主要包括有过氧化氢酶 (catalase)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase) 等。非酶类抗氧化剂包括矿物质 (如: 硒、锌和铜等); 维生素 (如: 维生素 C 和维生素 E 等); 类胡萝卜素 (如: 虾青素、 β -胡萝卜素和番茄红素等); 低分子量抗氧化剂 (如: 谷胱甘肽和尿酸等); 多酚, 其又可分为黄酮类化合物 (如: 黄酮、黄酮醇、黄烷醇、黄烷酮和花色素等) 及酚酸等。

近些年, 一些研究表明, 经口给予硒可有效缓解有机磷酸酯杀虫剂地亚农 (diazinon, DZN) 毒性所致大鼠血清中的脂质过氧化及自由基的生成^[14]; 尿酸可通过 Nrf2-ARE 通路抑制氧化损伤和神经炎症从而有效保护帕金森模型大鼠的多巴胺能神经元^[4]; 黄酮类化合物原花青素可有效抑制顺铂所致的氧化应激和睾酮合成紊乱等睾丸毒性对睾丸有一定的保护作用^[15]。均提示抗氧化剂对氧化应激及炎症等所致损伤可有一定保护作用。

据现有研究报道, 抗氧化剂主要可从以下几方面拮抗 EMT: 抗氧化物质和氧化物质水平、异位内膜组织体积、炎症因子水平、新血管形成和细胞凋亡等。

3.1 抗氧化物质和氧化物质水平

总抗氧化状态 (total antioxidant status, TAS) 可体现出机体内抗氧化分子和抗氧化酶等抗氧化物质的总体水平, 能反映出机体总的抗氧化能力; 总

氧化状态 (total oxidant status, TOS) 可体现出体内具有氧化损伤意义的氧自由基等氧化物在机体内总的氧化作用情况; 氧化应激指数 (oxidative stress index, OSI) 一般是指 TOS 与 TAS 水平的比值。TAS、TOS 和 OSI 在缺血再灌注损伤和糖尿病等疾病中常作为疾病状态下评估氧化应激的指标, 一般患者的 TOS 和 OSI 值与正常对照相比较, 而 TAS 值与正常对照相比则较低。在对 EMT 患者的临床研究中也得出了类似的结果, 即中度或重度 EMT 患者 (advanced-stage endometriosis) 的血清 TOS 和 OSI 值均显著高于正常对照的健康女性 ($P < 0.001$), 而患者的血清 TAS 值则明显低于正常对照的健康女性 ($P < 0.001$)^[16]。

近年来研究较多的硫辛酸 (α -lipoic acid, ALA) 有着“万能抗氧化剂”的美誉, 在临床上已被用于治疗糖尿病性神经病等疾病。据报道, ALA 对糖尿病、缺血再灌注等所致的氧化应激动物模型均有疗效。研究表明, ALA 可使 EMT 模型大鼠的血清 TOS 值和 OSI 值显著降低 ($P < 0.001$), 同时使其异位内膜的组织病理学评分明显下降 ($P < 0.001$)^[17]。提示, ALA 能有效降低 EMT 模型大鼠体内的氧化物质水平缓解其氧化应激状态。

橙皮素是存在于橘子和柠檬等柑桔中的一种生物类黄酮, 橙花叔醇则是一种天然的倍半萜烯醇, 它们均具有抗氧化和抗炎等作用。研究表明, 橙皮素和橙花叔醇均可使 EMT 模型大鼠异位内膜组织中抗氧化酶 SOD 和谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的水平显著升高 ($P < 0.01$), 同时橙皮素和橙花叔醇还都能使异位内膜的体积减小、组织病理学评分降低 ($P < 0.01$)^[18]。可知, 橙皮素和橙花叔醇可提高 EMT 模型动物异位内膜组织中抗氧化物质水平提升其抗氧化能力。

3.2 异位内膜组织体积

维生素 C (vitamin C, Vc) 是我们所熟知的一种能治疗坏血病的维生素, 又被称为抗坏血酸, 其作为一种抗氧化剂有抗炎和抗血管形成等作用。有研究指出, 手术制造大鼠 EMT 模型后的 21 d 和 42 d 分别测量 Vc 组 A (造模后, 每 2 d 静脉注射给予 EMT 模型大鼠 500 mg/kg 的 Vc, 给药 42 d)、Vc 组 B (造模第 21 天后, 每 2 d 静脉注射给予 EMT 模型大鼠 500 mg/kg 的 Vc, 给药 21 d) 和模型对照组 C (造模后到实验结束未给予任何药物) 大鼠异位内膜灶的体积, 结果显示, Vc 组 A 大鼠的异位内膜灶

体积均小于其余两组, Vc 组 B 大鼠在给予 Vc 后异位内膜灶体积在造模后 42 d 时比造模后 21 d 时减小了 (67.47 ± 91.85) mm^3 , 同时模型对照组 C 大鼠的异位内膜灶体积则比造模后 21 d 时增大了 (24.50 ± 48.90) mm^3 ^[19]。Durak 等^[20]也发现 Vc 可使 EMT 模型大鼠异位内膜囊肿的体积和重量明显减小, 并使异位内膜囊肿中 NK 细胞 (natural killer cell) 含量显著降低 ($P < 0.01$)。由此说明, Vc 可显著减小 EMT 模型动物异位内膜灶的体积并抑制其发展。

3.3 炎症因子水平

EMT 被认为是一种慢性炎症性疾病, 在其炎症过程中炎症因子, 如白介素-1 (IL-1)、白介素-6 (IL-6) 和白介素-8 (IL-8) 及肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor α , TNF- α) 等水平均升高。其中, TNF- α 由活性巨噬细胞、子宫内膜异位病灶和腹膜间皮细胞等分泌, 可调节其它细胞因子的分泌, 在 EMT 的发病过程中起了一定的作用^[21]。

右泛醇 (dexpantenol, Dxp), 即维生素原 B5, 其可在周围组织中被氧化成泛酸 (维生素 B5), 泛酸及其衍生物能增加细胞内谷胱甘肽和辅酶 A 等的合成, 其有抗氧化和抗炎的作用, 在抵御氧化应激及在炎症应答中都起到了一定的作用。研究表明, Dxp 可有效降低 EMT 模型大鼠血清及腹腔液中 TNF- α 水平 (血清: $P < 0.001$, 腹腔液: $P = 0.005$), 且使异位内膜的组织病理学评分显著下降 ($P = 0.013$)^[22]。

白藜芦醇是一种植物抗毒素, 具有多酚结构, 存在于红酒、葡萄和浆果中, 是一种强抗氧化剂, 其具有抗氧化、抗炎和抗血管生成的作用。研究表明, 白藜芦醇能使 EMT 模型大鼠血浆和腹膜液中的 IL-6, IL-8 和 TNF- α 水平均显著下降, 即白藜芦醇可有效降低 EMT 模型大鼠血清和腹腔液中炎症因子水平, 同时, 白藜芦醇还可使异位内膜组织学评分显著降低及明显减小异位内膜体积 ($P < 0.001$)^[23]。

由此表明, Dxp 和白藜芦醇等可有效抑制 EMT 模型动物体内炎症因子水平并抑制其异位内膜的发展。

3.4 新血管形成

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 是血管内皮细胞特异性的肝素结合性生长因子, 可诱导体内新血管的形成。研究已证实, 使用抗血管生成剂可有效抑制 EMT 模型大鼠异

位内膜发展并促使其退化^[24]。

褪黑素被认为可有效清除体内自由基,有促进睡眠、调节免疫、和抗衰老等作用,是一种使用广泛的抗氧化剂。研究表明,褪黑素能有效降低 EMT 模型大鼠异位内膜组织的 VEGF 水平($P < 0.001$),并使异位内膜的组织病理学评分明显降低($P = 0.004$),及异位内膜的体积显著减小($P = 0.011$)^[25]。

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是来源于绿茶的一种多酚类抗氧化剂。研究发现,VEGFC 在 EMT 大鼠模型异位内膜组织中成高表达,然而,在给予 EGCG 后 VEGFC 的表达显著降低($P < 0.001$),同时 EGCG 还能明显抑制异位内膜组织内微血管的长度、大小和数量,并使异位内膜体积显著减小($P < 0.05$)^[26]。

Ergenoglu 等^[24]发现,白藜芦醇可使 EMT 模型大鼠异位内膜 VEGF 免疫组化评分显著下降($P < 0.0005$),且使异位内膜组织病理学评分明显下降($P < 0.0005$)及异位内膜的体积显著减小($P < 0.0005$)。

由此可知,褪黑素、EGCG 和白藜芦醇等抗氧化剂可通过降低 EMT 模型动物异位内膜组织中 VEGF 的表达抑制异位内膜灶中新血管的形成,减小其体积并抑制其进一步的发展。

3.5 细胞凋亡

EMT 被认为与凋亡抵抗相关。有研究指出,白藜芦醇可抑制人异位内膜基质细胞中凋亡抑制基因 survivin 的表达($P < 0.05$),且还能增强由促凋亡分子 TNF 相关凋亡诱导配体(TNF- α -related-apoptosis-inducing ligand, TRAIL)诱导的细胞凋亡^[27]。研究发现,褪黑素能通过增强促凋亡基因 Bax 的表达及抑制凋亡抑制基因 Bcl-2 的表达,促进异位内膜区域的细胞凋亡^[28]。可见,抗氧化剂还可通过促进细胞凋亡来抑制异位内膜的发展。

4 展望

EMT 作为妇科的疑难病症之一,给该病的患者尤其是育龄女性的生活质量和心理健康等方面均带来了不小的影响和困扰。目前临床上用于治疗 EMT 的方法主要有药物治疗(如:孕激素、口服避孕药、雄激素类衍生物等)和手术治疗等,但治疗后或多或少会出现一些不良反应或易复发等情况。抗氧化剂,尤其是天然抗氧化剂因其抗氧化、抗炎和

毒副作用小等功能和特点常作为药物应用于临床,同时其作为有抗衰老等功效的保健品也广泛受到人们的欢迎。近年来,有关抗氧化剂拮抗 EMT 方面的作用也逐渐开始引起了研究人员的关注。一些研究结果也提示抗氧化剂可能对于 EMT 有一定的拮抗作用,这或许为 EMT 的治疗提供了新思路,但该方面的研究仍较少,而且其确切的作用效果及相关的作用机制可能还有待进一步的明确。

参考文献:

- [1] Gupta S, Ghulmiyyah J, Sharma R, et al. Power of proteomics in linking oxidative stress and female infertility [J]. *BioMed Res Int*, 2014, 2014: 1-26.
- [2] Xu D, Li Y, Zhang B, et al. Resveratrol alleviate hypoxic pulmonary hypertension via anti-inflammation and anti-oxidant pathways in rats [J]. *Int J Med Sci*, 2016, 13(12): 942-954.
- [3] Lian Y, Xia X, Zhao H, et al. The potential of chrysophanol in protecting against high fat-induced cardiac injury through Nrf2-regulated anti-inflammation, anti-oxidant and anti-fibrosis in Nrf2 knockout mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 1175-1189.
- [4] Huang TT, Hao DL, Wu BN, et al. Uric acid demonstrates neuroprotective effect on Parkinson's disease mice through Nrf2-ARE signaling pathway [J]. *Biochem Bioph Resco*, 2017, 493(4): 1443-1449.
- [5] 张婷婷,陈麒,朱抗美,等. 中药“红藤方”对子宫内膜异位症模型大鼠异位内膜的形态学影响 [J]. *生殖与避孕*, 2005, 25(12): 716-719, 737.
- [6] Acı ın P, Velasco I. Endometriosis: a disease that remains enigmatic [J]. *ISRN Obstet Gynecol*, 2013, 2013: 1-12.
- [7] 崔阳阳,孙伟伟,赵瑞华,等. 子宫内膜异位症对小鼠生育能力的影响 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(5): 479-483.
- [8] Carvalho LFP, Abrão MS, Biscotti C, et al. Oxidative cell injury as a predictor of endometriosis progression [J]. *Reprod Sci*, 2013, 20(6): 688-698.
- [9] Ngo C, Chereau C, Nicco C, et al. Reactive oxygen species controls endometriosis progression [J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(1): 225-234.
- [10] Defrere S, Lousse JC, Gonzalez-Ramos R, et al. Potential involvement of iron in the pathogenesis of peritoneal endometriosis [J]. *Mol Hum Reprod*, 2008, 14(7): 377-385.
- [11] Lousse JC, Van Langendonck A, Defrere S, et al. Peritoneal endometriosis is an inflammatory disease [J]. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2012, 4: 23-40.
- [12] Donnez J, Binda MM, Donnez O, et al. Oxidative stress in the pelvic cavity and its role in the pathogenesis of endometriosis [J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(5): 1011-1017.
- [13] Andrade SS, Azevedo Ade C, Monasterio IC, et al. 17 β -Estradiol and steady-state concentrations of H₂O₂: antiapoptotic

- effect in endometrial cells from patients with endometriosis [J]. *Free Radical Bio Med*, 2013, 60: 63-72.
- [14] El-Demerdash FM, Nasr HM. Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon [J]. *J Trace Elem med Bio*, 2014, 28(1):89-93.
- [15] Tian M, Liu F, Liu H, et al. Grape seed procyanidins extract attenuates cisplatin-induced oxidative stress and testosterone synthase inhibition in rat testes [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2018, 64(4): 246-259.
- [16] Turgut A, Ozler A, Goruk NY, et al. Copper, ceruloplasmin and oxidative stress in patients with advanced-stage endometriosis [J]. *Eur Rev Med Pharmaco*, 2013, 17(11): 1472-1478.
- [17] Pinar N, Soylu Karapinar O, Ozcan O, et al. Effect of alpha-lipoic acid on endometrial implants in an experimental rat model [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2017, 31(5): 506-512.
- [18] Melekoglu R, Ciftci O, Eraslan S, et al. The beneficial effects of nerolidol and hesperidin on surgically induced endometriosis in a rat model [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2018, 34(11): 975-980.
- [19] Erten OU, Ensari TA, Dilbaz B, et al. Vitamin C is effective for the prevention and regression of endometriotic implants in an experimentally induced rat model of endometriosis [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2016, 55(2): 251-257.
- [20] Durak Y, Koccu A, Kefeli M, et al. Effect of vitamin C on the growth of experimentally induced endometriotic cysts [J]. *J Obstet Gynaecol Re*, 2013, 39(7): 1253-1258.
- [21] Kurt RK, Pinar N, Karateke A, et al. Protective effects of colchicine in an experimental rat endometriosis model; histopathological evaluation and assessment of TNF-alpha levels [J]. *Reprod Sci*, 2015, 22(2): 258-263.
- [22] Soylu Karapinar O, Pinar N, Ozgur T, et al. The protective role of dexpanthenol on the endometrial implants in an experimentally induced rat endometriosis model [J]. *Reprod Sci*, 2017, 24(2): 285-290.
- [23] Bayoglu Tekin Y, Guven S, Kirbas A, et al. Is resveratrol a potential substitute for leuprolide acetate in experimental endometriosis? [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2015, 184: 1-6.
- [24] Ergenoglu AM, Yeniel AO, Erbas O, et al. Regression of endometrial implants by resveratrol in an experimentally induced endometriosis model in rats [J]. *Reprod Sci*, 2013, 20(10): 1230-1236.
- [25] Yilmaz B, Kilic S, Aksakal O, et al. Melatonin causes regression of endometriotic implants in rats by modulating angiogenesis, tissue levels of antioxidants and matrix metalloproteinases [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2015, 292(1): 209-216.
- [26] Xu H, Becker CM, Lui WT, et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate inhibits angiogenesis and suppresses vascular endothelial growth factor C/vascular endothelial growth factor receptor 2 expression and signaling in experimental endometriosis *in vivo* [J]. *Fertil Steril*, 2011, 96(4): 1021-1028.
- [27] Taguchi A, Koga K, Kawana K, et al. Resveratrol enhances apoptosis in endometriotic stromal cells [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2016, 75(4): 486-492.
- [28] Paul S, Bhattacharya P, Das Mahapatra P, et al. Melatonin protects against endometriosis via regulation of matrix metalloproteinase-3 and an apoptotic pathway [J]. *J Pineal Res*, 2010, 49(2): 156-168.

[收稿日期]2019-04-08