

基于氧化应激探讨 POI 对生殖的影响

杨 珍 董晓英

摘 要 早发性卵巢功能不全(POI)是对卵巢早衰、原发性卵巢功能不全一类疾病的命名更新。目前 POI 发生率日益增高,严重危害女性身心健康。学术界对 POI 的机制研究尚未明确,近些年研究发现氧化应激极大参与了 POI 的发生、发展,卵母细胞暴露于高浓度氧分子或氧的化学衍生物引起细胞损伤,阻断囊状卵泡中卵子的发育,导致卵巢早衰及生殖功能的下降。本文就近几年氧化应激与 POI 之间的关系及 POI 对生殖的影响进展加以综述,提出氧化应激与 POI 形成的机制,旨在为后续研究提供参考。

关键词 氧化应激 POI 机制 生殖

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.10.002

早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)是对卵巢早衰、原发性卵巢功能不全等一类疾病的全新命名,最新的诊断建议是年龄低于 40 岁的女性连续 4 个月的月经稀发或闭经,并连续 2 次以上超过 4 周间隔的血清促卵泡生成素(follicle-stimulating hormone, FSH) > 25 U/L^[1,2]。相关研究表明,POI 的人群发生率为 1%,且有日趋增高之势,严重地影响了女性的生殖能力及身心健康,受到了越来越多学者的关注。新近研究发现,氧化应激可能是导致 POI 发生的潜在原因,氧化应激是指细胞暴露于高浓度氧分子或氧的化学衍生物而引起的细胞损伤,以活性氧、氮和抗氧化防御为特征的抗氧化分子失衡状态,被认为是细胞再生系统中凋亡的决定因素^[3]。作用于生物大分子的活性氧自由基(reactive oxygen free radicals, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen free radicals, RNS)可破坏细胞结构,引起细胞和组织的生理和病理反应。在男性和女性生育能力低下的发病机制中发挥着关键作用。增加的 ROS 水平可以阻断囊状卵泡中卵子的发育。抗氧化物和抗氧化剂之间的这种不平衡会导致许多生殖疾病,如子宫内膜异位症、多囊卵巢综合征和早发性卵巢功能不全等不明原因的不孕;妊娠并发症,如自然流产、习惯性流产

和先兆子痫,也可发展为对氧化应激的反应。研究表明,极端的体重和生活方式因素,如吸烟、饮酒和吸毒,都会促进自由基的过量产生,从而影响生育能力。对环境污染物的接触越来越令人担忧,因为它们也被发现会引发氧化状态,可能是导致女性不孕的原因之一。因此,本文将探讨氧化应激与 POI 的关系及 POI 对生殖的影响。

一、氧化应激概述

氧化应激在 ROS 和大量的酶及非酶抗氧化剂的产生之间表现不平衡。过量的活性氧可损伤脂质、脂肪酸、蛋白质和氧化 DNA,导致细胞膜结构和功能的破坏,酶失活甚至细胞死亡。含氧分子 ROS 可分为自由基(O_2^-)、羟基自由基(OH)和非自由基(H_2O_2)3 种类型。在细胞中,抗氧化防御机制有 3 种主要的抗氧化酶,包括谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT),以及许多非酶抗氧化剂,如还原型和氧化型谷胱甘肽。在 3 种酶抗氧化剂中, SOD 催化 O_2^- 转化为 H_2O_2 , 而 GSH-Px 和 CAT 则进一步降解最终产物水(H_2O)^[4]。当氧化剂的产生超过细胞抗氧化系统的抗氧化能力时,就会产生氧化应激,从而提高活性氧的生理水平,包括氧自由基和过氧化物。这种防御系统的任何破坏都会导致活性氧的积累,并导致氧化应激。

氧化应激在内分泌干扰物介导的生殖功能障碍中起着重要作用,人们认为 ROS 可以作为细胞毒性评价的早期指标。在人类和动物模型中,ROS 和抗氧化剂参与了卵泡发育、卵母细胞成熟的调控。一些研究表明,氧化应激是正常细胞增殖和凋亡中断的重

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81503607);北京市自然科学基金资助项目(面上项目)(7162026);北京中医药薪火传承“3+3”工程项目(2012-SZ-C-41);首都中医药科技专项基金资助项目(JJ2013-01);首都医科大学中医药专项基金资助项目(15ZY05)

作者单位:100069 北京,首都医科大学中医药学院

通讯作者:董晓英,副教授,副主任医师,硕士生导师,电子信箱:softsongs@126.com

要因素之一,氧化应激可诱导颗粒细胞凋亡,进而导致卵泡闭锁,从而损害卵母细胞质量。

二、POI 与氧化应激相关的 3 条信号通路

POI 发生主要是由于卵巢衰退导致的严重排卵障碍,包括原始卵泡缺乏或不足、卵泡提前耗竭、卵泡生长发育异常等。始基卵泡是生殖细胞的基本单位,在女性生育中起到重要作用,紊乱的卵泡会导致一些生殖问题,氧化应激中增加的 ROS 水平会阻断囊状卵泡中卵子的发育。而抗氧化物可以恢复 ROS 水平,保护卵巢免受氧自由基调节的损伤^[5]。ROS 的产生,尽管对于生理过程很重要,也可能会诱导病理状态。氧化系统失衡导致循环产生的 ROS 进行长期的累积,增加卵巢疾病发病的风险,如 POI。

1. $PI_3K/Akt/mTOR$ 信号通路:目前,氧化应激信号通路在发展成 POI 女性的病理过程中发挥的损伤作用,已成为热门研究课题。许多因子在 $PI_3K/Akt/mTOR$ 信号通路中参与卵母细胞生长、始基卵泡发育和颗粒细胞的增殖与分化^[6]。 PI_3K/Akt 主要对细胞的生长增殖有很大影响。近几年,研究者调查已被证实的,早发性卵巢功能不全的卵巢相关生理病理的大鼠模型实验的机制,发现 $PI_3K/Akt/mTOR$ 通路不仅参与调节卵母细胞生长和调节,也在原始卵泡的存活和发育、加速颗粒细胞增殖和分化、阻碍颗粒细胞的凋亡中发挥重要作用。 PI_3K-Akt 通路在颗粒细胞受到氧化应激时,在调节 FOXO 1 的核/胞质穿梭中起着关键作用^[7,8]。FOXO 1 作为一种保守的转录调节剂,负责确定细胞的命运,在生长卵泡的颗粒细胞中有选择性和高表达^[9-12]。鼠卵巢组织免疫组织化学检测显示 FOXO 1 在卵泡闭锁时集中在颗粒细胞内,呈强核染色^[13]。早期的研究显示 FOXO 1 在调节颗粒细胞功能方面具有潜在的作用。例如,强迫 FOXO 1 在颗粒细胞中激活,可阻止促性腺激素引起的对甾醇/类固醇和脂质生成所需基因的上调^[14]。 $PI_3K/Akt/mTOR$ 信号通路在维持正常卵巢功能上有重要作用, PI_3K 信号通路的调节对 POI 的治疗有着广泛的前景。

2. SIRT1 信号通路:SIRT1 信号通路与卵巢的生理病理相关,是一种保护性的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性脱乙酰基酶,在各种生理及疾病状态下发挥生物学作用^[15]。SIRT1 与酵母沉默信息调节器 2 同源,是研究最广泛的沉默调节蛋白分子,它是抑制热量和抵抗氧化的关键分子。SIRT1 介导的 FOXO 3、P53 和 NF 等分子的去乙酰化作用对线粒体功能、凋

亡和炎症有着深远的影响^[16]。相关实验研究证明,SIRT1 在感官和调节细胞氧化还原状态发挥了重要作用,对于在体内外暴露于氧化应激下的细胞和组织,表现出保护性效果^[17]。SIRT1 的表达,位于细胞质和细胞核中,被观察到在哺乳动物颗粒细胞、卵母细胞、胚胎和人的卵巢细胞株中。SIRT1 随着衰老下调,而它信号通路的上调能保护小鼠卵母细胞对抗氧化应激。

3. MAPKs 信号通路:MAPKs 信号通路是响应氧化应激基因转录的主要调控因子,转录因子 NF-E2 相关因子 2 (Nrf2) 是细胞抗氧化应激反应中的关键因子,两者协同调控细胞的氧化应激。它们的信号级联由丝氨酸和(或)苏氨酸残基的磷酸化和去磷酸化控制。这一过程促进了受体酪氨酸激酶、蛋白酪氨酸激酶、细胞因子受体和生长因子的作用^[18]。过量的活性氧会破坏这些级联信号通路的正常作用。MAPKs 主要存在 3 个亚族:ERK1/2MAPK 家族、JNK/SAPKMAPK 家族和 P38MAPK 家族,在氧化应激状态下,MAPKs 3 个亚族发挥不同作用。ERK 信号转导途径是最早发现的经典 Ras-Raf-MAPK 信号通路,ERK 活化后促进细胞进入 G_1 期;应激可通过 Ras 或非 Ras 两条途径激活 JNK,JNK 通路由于受到 GST 酶的抑制而阻止磷酸化。在这个级联中加入 H_2O_2 可以破坏复合物,促进磷酸化,JNK 的活化可诱导细胞凋亡;P38 上游激活物为 MKK3、MKK4 及 MKK6、MKK4,它们与 JNK 通路共用,其余两个特异性激活 P38 信号通路,P38 通路被应激激活后,同样可以促进细胞凋亡^[19,20]。胞内多种应激状态如氧化应激、热休克和炎症反应都能激活 JNK 与 P38 信号通路。氧化应激会改变细胞信号转导机制,从而破坏细胞生长和增殖所需的生理过程。

由此可见, $PI_3K/Akt/mTOR$ 信号通路中参与卵母细胞生长、始基卵泡发育和颗粒细胞的增殖与分化,SIRT1 的表达被观察到在哺乳动物颗粒细胞、卵母细胞、胚胎和人的卵巢细胞株中,它的信号通路的上调能保护小鼠卵母细胞对抗氧化应激;MAPKs 信号通路和转录因子 NF-E2 相关因子 2 (Nrf2) 协同调控卵母细胞的氧化应激。因此上述 3 条通路成为通过氧化应激影响卵泡发育的重要通路。

三、POI 的孕育及妊娠结果

25% 的 POI 患者具有间歇性和不可预见性,自发受孕的可能性估计为 4% ~ 10%^[21,22]。这些女性的卵巢储备是通过超声计数的窦卵泡和抗缪勒氏管激

素,卵泡刺激素,雌二醇(E2)和抑制素 B 的检测。Naredi 等^[22]对 358 例特发性 POI 患者进行了近 6 年的随访,48 个月累计妊娠时间为 4.3%。21 例自然妊娠导致 16 例活产,1 例双胞胎,4 例流产,1 例选择性流产。2 例妊娠合并妊娠糖尿病,1 例甲状腺功能减退,1 例单胎妊娠导致早产。但目前在改善患者自身配子的生殖方面进展甚微,已有一些研究评价雌激素、促性腺激素释放激素类似物、糖皮质激素与促性腺激素刺激卵巢的效果,大约 20% 的 POI 患者排卵。卵母细胞捐赠是已被证明并推荐的治疗妇女 POI 导致妊娠困难的方法。卵子捐献周期后的妊娠率约为 40%,且累积妊娠率很高,4 个周期后达到 70%~80%^[23]。Ameratunga 等^[23]报道了 36 例 POI 患者卵子捐献后发生的并发症:早产 3 例,妊娠高血压 5 例,妊娠期糖尿病 2 例,宫内生长迟缓 1 例。两胎移植后有两例双胞胎妊娠^[24]。

随着癌症患病率总体上升,受影响患者的长期生存率也随之上升。因此应高度关注对化学治疗、放射治疗或外科手术引起的医源性 POI 的保护。在接受癌症治疗的年轻女性中,在放疗和保留生育的手术中应考虑屏蔽或卵巢移位。化疗期间给予促性腺激素释放激素类似物可显著降低年轻癌症患者发生 POI 的风险,但对生育能力无保护作用^[25,26]。胚胎和成熟卵母细胞的冷冻保存是临床公认的方法,妊娠率和活产率高达 25%。其他选择,如取回未成熟的卵母细胞,使其在体外成熟,冷冻性腺组织或使用卵巢干细胞的新方法,都有希望指导治疗 POI 造成的生殖问题,但仍被认为停留在实验阶段。

四、展 望

POI 严重影响女性的身心健康,极大降低了女性的生殖能力。氧化应激在生殖过程中具有双刃剑的作用,一些研究已经把氧化应激作为一些生殖问题的病理因素,尽管大部分 POI 患者被认为是特发性的,有研究表明,大约 70% 细胞遗传正常的特发性 POI 患者有 ROS 水平的升高,氧化/抗氧化是一种平衡状态,两方面相互制约相互影响女性生殖功能及妊娠结局。卵泡的发育和成熟在女性生育中至关重要,低 ROS 水平可以促进卵泡发生、卵母细胞成熟、卵巢类固醇生成和受精。当 ROS 水平超过细胞抗氧化防御能力就导致氧化应激,因此,在 POI 患者中观察衡量 ROS 水平对卵泡发生的损伤或始基卵泡凋亡的加速有重要作用。外源性抗氧化酶及内源性抗氧化体系对提高机体抗氧化能力具有重要作用。而对机体氧

化应激状态的调控,最终还是应通过改善内源性抗氧化能力,对氧化/抗氧化平衡状态进行动态调控,保证机体正常功能的发挥。例如,抗氧化剂补充在预防早孕损失方面进行了研究,其想法是替换耗尽的抗氧化剂储备,以对抗绝大多数氧化环境。所以进一步研究内源性抗氧化应激信号通路,如 SIRT 信号通路的传导机制,对改善女性生殖功能,提高卵母细胞质量具有重要意义。

综上所述,通过从氧化应激角度来讨论 POI 对生殖带来的影响,可以发现,氧化应激对 POI 的产生有非常重要的作用,POI 的发展会对生殖系统造成不可逆的损伤,因此,早期对氧化应激的检测和促进抗氧化的管理可能会延迟或预防氧化应激引起的 POI,将对解决 POI 产生的生殖问题带来巨大的优势。

参考文献

- 1 The ESHRE Guideline Group on POI. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency [J]. *Human Reprod*, 2016, 31(5): 926-937
- 2 中华医学会妇产科学会绝经学组. 早发性卵巢功能不全的激素补充治疗专家共识 [J]. *中华妇产科杂志*, 2016, 51(12): 881-886
- 3 Poljšak B, Suput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants [J]. *Oxidat Med Cell Longev*, 2013, 1: 956792
- 4 Rashid K, Sinha K, Sil PC. An update on oxidative stress - mediated organ pathophysiology [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62: 584-600
- 5 Wang W, Craig ZR, Basavarajappa MS, *et al.* Mono - (2 - ethylhexyl) phthalate induces oxidative stress and inhibits growth of mouse ovarian antral follicles [J]. *Biol Reprod*, 2012, 87(6): 152, e1-10
- 6 Shen M, Lin F, Zhang J, *et al.* Involvement of the upregulated FoxO1 expression in follicular granulosa cell apoptosis induced by oxidative stress [J]. *Biol Chem*, 2012, 287: 25727-25740
- 7 Shen M, Liu Z, Li B, *et al.* Involvement of FoxO1 in the effects of follicle - stimulating hormone on inhibition of apoptosis in mouse granulosa cells [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1475
- 8 Accili D, Arden KC. FoxOs at the crossroads of cellular metabolism, differentiation, and transformation [J]. *Cell*, 2004, 117: 421-426
- 9 Greer EL, Brunet A. FOXO transcription factors at the interface between longevity and tumor suppression [J]. *Oncogene*, 2005, 24: 7410-7425
- 10 Salih DA, Brunet A. FoxO transcription factors in the maintenance of cellular homeostasis during aging [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, 20: 126-136
- 11 Liu L, Rudd MD, Hernandez - Gonzalez I, *et al.* FSH and FOXO1 regulate genes in the sterol/steroid and lipid biosynthetic pathways in granulosa cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2009, 23: 649-661

(转第 4 页)