

自由基种类繁多,常见的有活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、活性氮簇(reactive nitrogen species, RNS)、活性硫簇(reactive sulphur species, RSS)等,其中以ROS和RNS为主。ROS包括超氧阴离子(superoxide anion, O_2^-)、过氧化氢自由基(peroxyl radicals, $HOO\cdot$)、羟基自由基(hydroxyl radicals, $\cdot OH$)、过氧化氢(hydrogenperoxide, H_2O_2)等;RNS包括一氧化氮(nitric oxide, NO)、二氧化氮(nitrogen dioxide, NO_2)、过氧亚硝基(peroxynitrite anion, $ONOO^-$)等。广义ROS包含RNS、RSS在内。

机体同时也存在着固有的抗氧化系统以保护细胞免受自由基的损伤。人机体固有的抗氧化系统分为酶类和非酶类,其中抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽还原酶(glutathione peroxidase, GPX)、过氧化氢酶(catalase, CAT)。非酶类抗氧化物包括维生素A、维生素C、维生素E、谷胱甘肽、尿酸等。

正常生理状态下,机体内自由基的产生与抗氧化系统处于动态平衡;当自由基大量生成而超过抗氧化系统的清除能力时,此平衡被打破,则表现为氧化应激状态^[2]。

1.2 氧化应激对组织细胞的影响

氧化应激可造成细胞内各种大分子(包括糖类、蛋白质、脂质、DNA等)损伤,此外,ROS还是氧化还原通路中重要的细胞信号分子。

ROS可造成细胞内主要大分子结构的氧化损伤,表现为以下方面。

1) 攻击富含多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid)的细胞膜,使细胞膜发生脂质过氧化反应(lipid peroxidation),其产物为 $ROO\cdot$ 或者 $ROOH$ 形式的自由基、共轭双烯、丙二醛(malondialdehyde)、4-羟基壬烯醛(4-hydroxy-2-nonenal, 4-HNE)。以上具有高度活性的过氧化产物能降低线粒体膜的流动性,增加膜通透性,将细胞色素氧化酶C(cytochrome oxidase, CytoC)释放至细胞质,与凋亡激活因子(apoptosis protein activating factor, Apaf)-1、天冬氨酸特异性半胱氨酸酶(cysteine-containing aspartate-specific proteases, caspase)9结合形成蛋白质复合物,激活caspase9,随之级联反应激活caspase3,最终导致细胞凋亡。

2) 使DNA发生氧化损伤,其毒性产物为8-羟

基脱氧鸟苷(8-OH-deoxyguanosine, 8-OHdG)。ROS可攻击线粒体DNA,干扰其转录与翻译,使线粒体DNA发生点突变、缺失或者插入;ROS还抑制线粒体DNA编码蛋白质的合成,影响线粒体蛋白质的正确表达,线粒体数目减少、细胞内能量代谢紊乱。

3) 攻击细胞内蛋白质,使蛋白质片段交联或凝聚,尤其是各类DNA修复酶,导致基因组不稳定性增加^[3]。

2 氧化应激参与口腔疾病的发生和发展

2.1 氧化应激与颞下颌关节紊乱病(temporomandibular disorders, TMD)

2.1.1 氧化应激与TMD的相关性 近年来的临床研究表明,TMD患者关节腔内滑膜液、血清、唾液中常出现ROS水平升高,抗氧化能力下降。

Kawai等^[4]研究发现,在白细胞介素(interleukin, IL)-1 α 诱导大鼠颞下颌关节炎中,关节腔内滑液中ROS参与炎症的发生、发展。随后, Lee等^[5]采用电子自旋共振检测方法发现,TMD患者关节腔内滑液的ROS堆积,导致氧化应激损伤,从而加剧炎症反应,激活软骨基质降解酶,使颞下颌关节退行性变。

TMD患者在关节腔内滑膜液ROS堆积的同时,其抗氧化水平也下降。Etoz等^[6]研究发现,TMD伴开口受限患者关节腔内滑液的总抗氧化能力(total antioxidant capacity, TAC)明显低于单纯TMD组,而总氧化状态(total oxidant status, TOS)与疾病的持续时间呈负相关。开口受限的TMD患者关节腔内滑液抗氧化能力明显低于非开口受限的TMD患者^[7]。随着疾病进展,TMD患者关节腔内滑液中GPX和NO活性增加。

氧化应激还参与TMD疼痛发病过程,TMD伴疼痛患者唾液的氧化应激指数(oxidative stress index, OSI)明显高于TMD不伴疼痛患者^[8],提示氧化应激与TMD的进展程度以及临床症状具有相关性。

2.1.2 外周刺激引发颞下颌关节组织结构氧化应激损伤所致TMD的机制 氧化应激参与炎症、创伤、机械应力、关节退行性变等引起TMD的病理过程^[9]。

Yamaza等^[10]通过对大鼠下颌施行8周被动开口过度造成髁突发生过度移位的实验,发现机械

负荷下颞下颌关节滑膜细胞过度产生过氧亚硝基阴离子(ONOO⁻),促使滑膜衬里细胞发生氧化应激,并使DNA单链断裂损伤,滑膜细胞增生,进一步验证了氧化应激参与机械压力对颞下颌关节的损伤过程。关于氧化应激导致TMD发病的机制尚待进一步研究。

Ueno等^[11]研究发现,H₂O₂能降低颞下颌关节软骨细胞活力及增殖能力,促进软骨细胞凋亡,诱导炎症因子的产生,使聚蛋白多糖、粘多糖、II型胶原纤维的表达下调至少70%。而N-对乙酰半胱氨酸(N-acetyl cysteine, NAC)能减轻H₂O₂对软骨细胞的氧化损伤。

2.2 氧化应激与咀嚼肌疾病

2.2.1 氧化应激与咀嚼肌疾病的相关性 氧化应激可参与骨骼肌功能紊乱病理改变的各个过程,如低氧、炎症、进行性肌营养不良、废用性肌肉萎缩等,其能导致肌肉损伤、肌纤维类型转变、收缩功能异常^[12]。

Magalhães等^[13]研究发现,在低压缺氧条件下增加大鼠骨骼肌线粒体氧化应激,降低线粒体氧化磷酸化能力,导致线粒体功能紊乱,而维生素E可有效减缓这一过程。

在口颌系统中,心理应激、咬合异常等诱发的氧化应激反应参与咀嚼肌功能紊乱发病过程。Cui等^[14]通过建立慢性不可预知温和应激大鼠模型,发现大鼠咬肌组织丙二醛含量增加,SOD、CAT、GPX活性下调,且这一过程能被具有抗氧化作用的姜黄素所减弱。

氧化应激还与咀嚼肌的废用性肌萎缩相关。Iyomasa等^[15]对大鼠进行拔牙和急性心理应激干预,23 d后发现,咬肌组织中ROS水平低于正常组,其中拔牙尤甚,提示ROS水平下降与拔牙侧肌肉废用性萎缩有关。然而,Loyola等^[16]则发现,大鼠在拔牙23 d后,翼外肌中ROS增加,而慢性应激干预下其肌纤维ROS水平不发生明显变化。目前认为,ROS可通过激活钙依赖性钙蛋白酶系统、细胞核因子(nuclear factor, NF)-κB、丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等细胞信号通路促进骨骼肌蛋白降解,抑制肌蛋白合成,而RNS则参与抑制抗氧化系统,ROS/RNS的双重因素导致骨骼肌氧化还原态失衡是废用性肌萎缩的致病机制之一^[17]。

临床上进行性肌营养不良严重影响口颌面部肌肉的生长、发育,抗肌萎缩蛋白缺陷型肌营养

不良大鼠舌肌、颞肌、咬肌组织中谷胱甘肽明显下降,而谷胱甘肽/氧化谷胱甘肽比值高于正常对照组,推测氧化应激是进行性肌营养不良的病理机制之一^[18]。

此外,氧化应激还参与低氧条件咀嚼肌的肌纤维类型转变。Gedrange等^[19]通过固定在猪上下颌磨牙到下颌被动向前的斜面装置,使其咀嚼肌负荷4周后,咀嚼肌中谷胱甘肽活性下调,且谷胱甘肽/氧化谷胱甘肽比值变化与其肌纤维类型由II型向I型转变的比率具有一致性。

2.2.2 外周刺激引发咀嚼肌氧化应激损伤所致咀嚼肌结构与功能异常的机制 骨骼肌细胞内含有一定浓度ROS是正常肌力产生的保证,当机体内源性抗氧化物不能有效缓冲一次力竭运动所产生的大量ROS时,ROS的堆积即会导致氧化应激损伤,包括肌无力、肌疲劳等^[20]。而关于氧化应激过程中ROS/RNS对骨骼肌结构、功能影响的机制,目前尚未明确。Debold^[21]认为ROS主要从抑制肌纤维膜去极化、使肌浆网释放Ca²⁺数量减少、降低细肌丝对Ca²⁺的敏感性、直接降低肌球蛋白的结合能力以及减少肌动蛋白丝的移位等方面影响肌肉的收缩功能。

综上所述,ROS参与骨骼肌运动性肌疲劳的发生过程,临床上咀嚼肌功能紊乱常表现为咀嚼肌压痛、疲劳、咀嚼乏力,与骨骼肌运动性肌疲劳表现极为相似,但就ROS对骨骼肌结构的影响及其具体机制的认识仍有争议。

2.3 氧化应激与牙周病

2.3.1 氧化应激与牙周病的相关性 氧化应激参与牙周病的发生、发展。近期研究^[22]表明,牙周病患者的血清、唾液、龈沟液中的ROS水平升高,并且与牙周炎严重程度、牙周临床指数相关。Liu等^[23]的Meta分析显示,牙周病患者外周血中丙二醛和一氧化氮水平高于正常组。牙周病患者经治疗后,血清中SOD、GPX显著上升^[24]。Oktay等^[25]通过对大鼠接种牙龈卟啉单胞菌诱导建立牙周炎模型,发现牙周炎模型大鼠的氧化应激指数是正常组的5倍。因此,维持牙周组织内氧化/抗氧化平衡态对牙周组织的健康十分重要。

2.3.2 外周刺激引发牙周组织氧化应激损伤所致牙周病的机制 低氧、尼古丁、细菌脂多糖等均能引起牙周组织的氧化应激反应,过量的ROS对牙周组织细胞损伤的机制包括加速细胞衰老、凋亡,放大炎症反应及组织破坏。Wu等^[26]的体外研究证

实, H_2O_2 能降低牙周膜纤维细胞活力, 通过激活 caspase途径启动细胞凋亡, 而抗氧化物维生素C能拮抗部分 H_2O_2 对牙周韧带细胞的损伤。ROS还通过降解各种细胞外基质成分, 如通过氧化修饰蛋白聚糖的氨基酸基团, 导致其核心蛋白分裂; 解聚粘多糖链^[27]。Gölz等^[28]通过体外分离、培养牙周膜纤维细胞, 发现在低氧条件下及牙龈卟啉单胞菌提取的脂多糖诱导下, ROS和CAT高表达; 此外, ROS介导还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (reduced form of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶4 (NADPH-oxidase 4, NOX4) 促进牙槽骨吸收。

氧化应激与牙周病的发生、发展密切相关。但现有体外研究大多应用单一类型的活性氧物质或抗氧化剂进行模拟, 与体内多种活性氧物质和抗氧化剂的复合作用效应可能存在差异。对氧化应激在牙周组织生理、病理变化中的作用及其机制进行深入研究, 对牙周病防治提供科学依据。

2.4 氧化应激与口腔癌及癌前病变

2.4.1 氧化应激与口腔癌及癌前病变的相关性 氧化应激与口腔癌、扁平苔藓 (oral lichen planus)、口腔黏膜纤维化病变 (oral submucous fibrosis) 的发生、发展存在相关性。研究^[29-30]表明, 口腔癌患者唾液、血液中丙二醛明显增加, 而SOD、TAC、总一氧化氮明显下调, 说明氧化应激与口腔癌的发生存在相关性。癌前病变扁平苔藓患者唾液中同样存在氧化还原态失衡, 表现为8-OHdG生成增加, 以及TAC/丙二醛比值下调^[31]。口腔黏膜纤维化病变患者血清中维生素C、维生素E、胡萝卜素以及谷胱甘肽、TAC均显著低于健康人^[32], 唾液中羟基自由基 ($\cdot OH$)、脂质过氧化物共轭双烯、SOD水平升高^[33]。

鉴于氧化应激与口腔癌及癌前病变的相关性, 而临床上对其氧化应激指标检测尚未统一, 因此寻找敏感、特异性强的氧化应激标志物对口腔癌发病机制的研究及诊断、分型、监测具有重要意义。

2.4.2 外周刺激引发口腔上皮组织氧化应激所致口腔癌及癌前病变的发病机制 外周刺激 (如吸烟、咀嚼槟榔、酗酒等) 是导致口腔癌及癌前病变发生的高危因素, 氧化应激可通过损伤DNA、促进癌细胞转移扩散等方式参与口腔癌的发生、发展^[30]。研究^[34]发现, 经烟草浸渍液培养, 口腔上皮癌细胞的自由基产生增加, 细胞核内DNA发

生氧化损伤, 从而启动细胞凋亡途径。此外, 经槟榔提取液处理后, 人口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma) 细胞ROS生成增加。ROS还能促进口腔癌细胞生物学行为改变, 诱导口腔癌细胞上皮-间充质转化 (epithelial to mesenchymal transition), 促进癌细胞转移扩散^[35]。此外, 氧化应激还通过 β -连环蛋白^[36]、低氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor, HIF) -1 α ^[37]等参与槟榔对口腔鳞状细胞癌的致病机制。

3 小结

外周刺激所致氧化应激损伤与多类口腔疾病的发生、发展密切相关。然而目前关于口腔颌面组织氧化应激损伤机制的研究仍在不断深入探讨中。对于ROS在口腔病变组织病理变化中的作用及其机制的深入研究, 以及寻找具有敏感、特异、简便的新的氧化应激检测指标, 将为口腔疾病的诊疗提供新思路。

4 参考文献

- [1] Poprac P, Jomova K, Simunkova M, et al. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases[J]. Trends Pharmacol Sci, 2017, 38(7): 592-607.
- [2] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(1): 44-84.
- [3] Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer[J]. Semin Cell Dev Biol, 2018, 80: 50-64.
- [4] Kawai Y, Kubota E, Okabe E. Reactive oxygen species participation in experimentally induced arthritis of the temporomandibular joint in rats[J]. J Dent Res, 2000, 79(7): 1489-1495.
- [5] Lee MC, Kawai Y, Shoji H, et al. Evidence of reactive oxygen species generation in synovial fluid from patients with temporomandibular disease by electron spin resonance spectroscopy[J]. Redox Rep, 2004, 9(6): 331-336.
- [6] Etöz OA, Akçay H, Neşelioğlu S, et al. Total antioxidant capacity and total oxidant status of synovial

- fluids in patients with temporomandibular joint pain and dysfunction[J]. *Clin Oral Investig*, 2012, 16(6): 1557-1561.
- [7] Ishimaru K, Ohba S, Yoshimura H, et al. Antioxidant capacity of synovial fluid in the temporomandibular joint correlated with radiological morphology of temporomandibular disorders[J]. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 2015, 53(2): 114-120.
- [8] Nitzan DW, Goldfarb A, Gati I, et al. Changes in the reducing power of synovial fluid from temporomandibular joints with 'anchored disc phenomenon' [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2002, 60(7): 735-740.
- [9] Rodríguez de Sotillo D, Velly AM, Hadley M, et al. Evidence of oxidative stress in temporomandibular disorders: a pilot study[J]. *J Oral Rehabil*, 2011, 38(10): 722-728.
- [10] Yamaza T, Masuda KF, Atsuta I, et al. Oxidative stress-induced DNA damage in the synovial cells of the temporomandibular joint in the rat[J]. *J Dent Res*, 2004, 83(8): 619-624.
- [11] Ueno T, Yamada M, Sugita Y, et al. N-acetyl cysteine protects TMJ chondrocytes from oxidative stress[J]. *J Dent Res*, 2011, 90(3): 353-359.
- [12] Lecarpentier Y. Physiological role of free radicals in skeletal muscles[J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2007, 103(6): 1917-1918.
- [13] Magalhães J, Ascensão A, Soares JM, et al. Acute and severe hypobaric hypoxia increases oxidative stress and impairs mitochondrial function in mouse skeletal muscle[J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2005, 99(4): 1247-1253.
- [14] Cui M, Li Q, Zhang M, et al. Long-term curcumin treatment antagonizes masseter muscle alterations induced by chronic unpredictable mild stress in rats[J]. *Arch Oral Biol*, 2014, 59(3): 258-267.
- [15] Iyomasa MM, Fernandes FS, Iyomasa DM, et al. Metabolic changes in masseter muscle of rats submitted to acute stress associated with exodontia[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128397.
- [16] Loyola BM, Nascimento GC, Fernández RA, et al. Chronic stress effects in contralateral medial pterygoid muscle of rats with occlusion alteration[J]. *Physiol Behav*, 2016, 164(PtA): 369-375.
- [17] Powers SK, Smuder AJ, Judge AR. Oxidative stress and disuse muscle atrophy: cause or consequence[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2012, 15(3): 240-245.
- [18] Spassov A, Gredes T, Gedrange T, et al. Increased oxidative stress in dystrophin deficient (mdx) mice masticatory muscles[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2011, 63(6): 549-552.
- [19] Gedrange T, Lupp A, Walter B, et al. Oxidative state and histological changes in muscles of mastication after conditioning training[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2001, 53(1): 89-96.
- [20] Steinbacher P, Eckl P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle[J]. *Biomolecules*, 2015, 5(2): 356-377.
- [21] Debold EP. Potential molecular mechanisms underlying muscle fatigue mediated by reactive oxygen and nitrogen species[J]. *Front Physiol*, 2015, 6: 239.
- [22] 沈妍欣, 郭淑娟, 吴亚菲. 慢性牙周炎的氧化应激及抗氧化治疗研究进展[J]. *中华口腔医学杂志*, 2016, 51(7): 442-446.
- Shen YX, Guo SJ, Wu YF. Oxidative stress and antioxidant therapy of chronic periodontitis[J]. *Chin J Stomatol*, 2016, 51(7): 442-446.
- [23] Liu Z, Liu Y, Song Y, et al. Systemic oxidative stress biomarkers in chronic periodontitis: a meta-analysis [J]. *Dis Markers*, 2014, 2014: 931083.
- [24] Biju T, Shabeer MM, Amitha R, et al. Comparative evaluation of serum superoxide dismutase and glutathione levels in periodontally diseased patients: an interventional study[J]. *Indian J Dent Res*, 2014, 25(5): 613-616.
- [25] Oktay S, Chukkappalli SS, Rivera-Kweh MF, et al. Periodontitis in rats induces systemic oxidative stress that is controlled by bone-targeted antiresorptives[J]. *J Periodontol*, 2015, 86(1): 137-145.
- [26] Wu W, Yang N, Feng X, et al. Effect of vitamin C administration on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in periodontal ligament cells[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1): 242-248.
- [27] Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases[J]. *Oral Dis*, 2000, 6(3): 138-151.
- [28] Gözl L, Memmert S, Rath-Deschner B, et al. LPS

- from *P. gingivalis* and hypoxia increases oxidative stress in periodontal ligament fibroblasts and contributes to periodontitis[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 986264.
- [29] Korde SD, Basak A, Chaudhary M, et al. Enhanced nitrosative and oxidative stress with decreased total antioxidant capacity in patients with oral precancer and oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncology*, 2011, 80(5/6): 382-389.
- [30] Choudhari SK, Chaudhary M, Gadbaile AR, et al. Oxidative and antioxidative mechanisms in oral cancer and precancer: a review[J]. *Oral Oncol*, 2014, 50(1): 10-18.
- [31] Agha-Hosseini F, Mirzaii-Dizgah I, Farmanbar N, et al. Oxidative stress status and DNA damage in saliva of human subjects with oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2012, 41(10): 736-740.
- [32] Bose KS, Vyas P, Singh M. Plasma non-enzymatic antioxidants-vitamin C, E, β -carotenes, reduced glutathione levels and total antioxidant activity in oral sub mucous fibrosis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2012, 16(4): 530-532.
- [33] Chitra S, Balasubramaniam M, Hazra J. Effect of α -tocopherol on salivary reactive oxygen species and trace elements in oral submucous fibrosis[J]. *Ann Clin Biochem*, 2012, 49(Pt 3): 262-265.
- [34] Li B, Lu M, Jiang XX, et al. Inhibiting reactive oxygen species-dependent autophagy enhanced baicalein-induced apoptosis in oral squamous cell carcinoma [J]. *J Nat Med*, 2017, 71(2): 433-441.
- [35] Qin X, Kuang H, Chen L, et al. Coexpression of growth differentiation factor 11 and reactive oxygen species in metastatic oral cancer and its role in inducing the epithelial to mesenchymal transition[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2017, 123(6): 697-706.
- [36] Lee SS, Tsai CH, Tsai LL, et al. β -catenin expression in areca quid chewing-associated oral squamous cell carcinomas and upregulated by arecoline in human oral epithelial cells[J]. *J Formos Med Assoc*, 2012, 111(4): 194-200.
- [37] Lee SS, Tsai CH, Yang SF, et al. Hypoxia inducible factor-1 α expression in areca quid chewing-associated oral squamous cell carcinomas[J]. *Oral Dis*, 2010, 16(7): 696-701.

(本文编辑 胡兴戎)

《国际口腔医学杂志》获“2018年度中国高校优秀科技期刊”称号

中国高校科技期刊研究会于2018年11月4日发布了2018年度中国高校杰出·百佳·优秀科技期刊遴选结果。此次遴选是在全国900余会员单位中择优选取的,《国际口腔医学杂志》在此次评选中获“2018年度中国高校优秀科技期刊”称号。

本次获得的荣誉既是对编辑部全体成员的表彰和肯定,也是鞭策和鼓励。科技期刊的发展任重道远,《国际口腔医学杂志》编辑部将继续发扬团队精神,精诚合作,取得更多的成果。

《国际口腔医学杂志》编辑部