

The Research on the Antioxidant Effect of Vitamin C in the Eye

Nan Si, Zhihong Wu*, Yan Ma

Ophthalmology, Armed Police General Hospital of China, Beijing
Email: sinan1129@126.com, *fswuzhihong@sina.com

Received: Aug. 3rd, 2013; revised: Sep. 6th, 2013; accepted: Sep. 18th, 2013

Copyright © 2013 Nan Si et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. In accordance of the Creative Commons Attribution License all Copyrights © 2013 are reserved for Hans and the owner of the intellectual property Nan Si et al. All Copyright © 2013 are guarded by law and by Hans as a guardian.

Abstract: Oxidative stress is a pathological state of metabolic imbalance that the generation of oxygen free radicals in body exceeds the elimination. Endogenous and exogenous factors including aging, overweight, ultraviolet light, radiation, smoking, drugs and environment pollution can cause the oxidative stress. Oxidative stress is one of a series of common pathological processes in a range of diseases, and it has no exception in ophthalmic disease. Under normal circumstances, a dynamic balance between oxidants and antioxidants in eye exists. Therefore, the research on antioxidant activity of the eye has significant value in diagnosis and prevention of ophthalmic disease. In this paper, we carried out a comprehensive overview about the antioxidant mechanism of antioxidant vitamin C in eye.

Keywords: Oxidative Stress; ROS; Vitamin C; Antioxidant; Ophthalmic Diseases

维生素 C 在眼部的抗氧化作用研究进展

司南, 吴志鸿*, 马艳

北京武警总医院眼科, 北京
Email: sinan1129@126.com, *fswuzhihong@sina.com

收稿日期: 2013年8月3日; 修回日期: 2013年9月6日; 录用日期: 2013年9月18日

摘要: 氧化应激是机体内氧自由基的产生超过其清除能力的一种代谢失衡的病理状态^[1]。年龄老化、超重、紫外线照射、辐射、吸烟、药物及环境污染等内源性、外源性自由基的侵袭都可造成机体的氧化应激。氧化应激损伤也是一系列疾病的共同病理过程之一, 眼科疾病也不例外^[2]。在正常情况下, 眼睛各个组分都存在一定种类、一定含量的抗氧化剂, 与氧化应激之间形成动态平衡, 保护眼部各组分的正常生理功能。因此, 眼部抗氧化剂活性的研究对眼科疾病的诊断及防治非常重要。本文就抗氧化剂维生素 C 在眼部的抗氧化作用机制进行了较为全面的综述。

关键词: 氧化应激; ROS; 维生素 C; 抗氧化; 眼科疾病

1. 引言

氧化应激(oxidative stress, OS)是指机体在遭受各种有害刺激时, 体内高活性分子如活性氧自由基

*通讯作者。

(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)产生过多, 氧化程度超出氧化物的清除, 氧化系统和抗氧化系统失衡, 从而导致组织损伤。正常情况下, 生物体内有一套完整的抗氧化体

系,可以维持自由基的代谢平衡,细胞内 ROS 的水平被控制在很低的范围,并在抗菌、消炎和抑制肿瘤等方面具有重要意义。但在疾病或某些外源性药物和毒物入侵后,ROS 生成可以快速地增加;进一步导致氧化应激和抗氧化防御间平衡失调,从而引起生物膜和大分子物质发生脂质过氧化损伤。ROS 的产生和代谢失衡引起多种器官功能异常或组织病变。年龄老化、超重、紫外线照射、辐射、吸烟、药物及环境污染等内源性、外源性自由基的侵袭造成了机体的氧化应激。自由基是指具有未配对电子的原子、原子团、分子或离子,它的单电子有强烈的配对倾向,因而其性质非常活泼,成为许多反应的活性中间体。自由基作用于生物大分子,破坏细胞结构,最终导致诸如动脉粥样硬化、缺血-再灌注损伤、肝病、糖尿病、炎症、肾衰竭、衰老、癌症等的发生发展。同时,氧化应激损伤也是一系列眼科疾病的共同病理过程之一。在正常情况下,眼睛各个组分都存在一定种类、一定含量的抗氧化剂,与氧化应激之间形成动态平衡,保护眼部各组分的正常生理功能。因此,眼部抗氧化剂活性的研究对眼科疾病的诊断及防治非常重要。

2. 自由基与 ROS

自由基是近年来在基础医学和生命科学领域的研究热点,活性氧(reactive oxygen species, ROS)是生物体内一类活性含氧化合物的总称。自由基是指在一个轨道上具有一个不成对电子的原子或原子团。一般可通过分子或离子的均裂获得: $A:B \rightarrow A \cdot + B \cdot$ 。ROS 是生物体内的氧自由基,包括氧和含氧的高反应活性分子(如超氧化物阴离子、组织过氧化物和自由基等),ROS 是需氧细胞在许多代谢反应和相应的刺激作用下产生的。这些活化中间体都是直接或间接地由分子氧转化而来,具有比分子氧更活泼的化学反应性质。

3. ROS 的产生及作用机理

从研究历史来看,ROS 的产生被认为是无序和随机的,能引起疾病和衰老^[3,4]。同时,ROS 的产生又是一个非常正常的生理过程,尤其是在具有免疫活性的细胞和众多协同配合的信号传导通路中。实验表明,线粒体是细胞内 ROS 产生的主要部位,线粒体呼吸链中的酶复合体 I 和 III 漏出的电子(电子漏)能与 O_2 结合生成 ROS。Chance 等^[5]证明,在正常的生理

情况下,约有 2% 的氧消耗于线粒体用于 ROS 产生。除线粒体外,内质网和各种氧化酶类如 NADPH 氧化酶复合体、蛋白激酶 C、脂氧合酶系、环氧合酶系也能产生部分 ROS。另外,NADPH 氧化酶的同源物氮氧化物 NOX 蛋白家族,正常状态下保持一定活性,制造部分 ROS,作为信号分子,调节细胞行为^[6]。原则上,任何涉及电子传递的蛋白质或酶系都能导致“副产物”ROS 的生成^[7]。一些外部环境(如高温、紫外线、金属离子、农药、抗生素等)也可能导致细胞内 ROS 含量的升高,冯京海等^[8]研究表明,日循环高温升高肉鸡线粒体 ROS 的产生量,导致肝脏和胸肌脂质过氧化,使肌肉的品质下降。另外,机体的生理状态(如疲劳、运动、疾病等)也会影响 ROS 的含量。植物内 ROS 产生机制与动物呼吸迸发机制相似,ROS 可由多种途径产生,Bolwell 等^[9]研究发现,位于细胞膜上的 NADH 和 NADPH 氧化酶、非胞质的过氧化物酶、胺氧化酶等都能产生 ROS,其中 NADPH 氧化酶途径研究的最多。另有研究表明,来自病原真菌及其植物的葡聚糖、半乳糖醛、寡聚半乳糖醛酸、肽、水杨酸等的诱导也可导致 ROS 的产生^[10]。

4. 维生素 C 在体内的作用机制

维生素 C(Vitamin C, Ascorbic Acid)又叫 L-抗坏血酸,是一种水溶性维生素。正常情况下,维生素 C 绝大部分在体内经代谢分解成草酸或与硫酸结合生成抗坏血酸-2-硫酸由尿排出;另一部分可直接由尿排出体外。维生素 C 在体内参与多种反应,如参与氧化还原过程,在生物氧化和还原作用以及细胞呼吸中起重要作用。从组织水平看,维生素 C 的主要作用是细胞间质的合成有关,包括胶原,牙和骨的基质,以及是毛细血管内皮细胞间的接合物。维生素 C 同时也是抗体及胶原形成,组织修补(包括某些氧化还原作用),苯丙氨酸、酪氨酸、叶酸的代谢,铁、碳水化合物的利用,脂肪、蛋白质的合成,维持免疫功能,羟化与羟色胺,保持血管的完整,促进非血红素铁吸收等过程所必需的。

5. 维生素 C 在眼部的抗氧化作用

5.1. 角膜

角膜作为眼的主要屈光介质与外界的氧、光线及

其他有害物质接触的机会最多,同时它还会受到房水中各种成分的影响,所以易受到内外源自由基的损伤。但是,正常角膜组织中有抗自由基系统存在,能有效地保护角膜组织。Amany 等^[11]对 90 只雄性 SD 大鼠给予高剂量的铬-甲基吡啶口服给药,造成了角膜、晶状体的组织学和形态学的改变,经过补充维生素 C、E 作为抗氧化剂,可以抑制铬-甲基吡啶对眼睛的进一步损害并使角膜的形态功能有所恢复。Shimmura 等^[12]、Niizuma 等^[13]证实屈光性角膜切削术(PRK)术后角膜组织可以产生自由基,Kasetsuwan 等^[14]在 PRK 术后局部应用维生素 C 后发现治疗组的浅层角膜中的脂质过氧化物和多形核白细胞计数显著降低,因此证实了维生素 C 的抗氧化作用。

5.2. 房水

维生素 C 在人眼内的浓度较高,房水中的浓度大约是血浆的 20 倍。房水因为其自身的多种生理功能而含有大量的超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD),房水中 SOD 和房水、晶状体核中的维生素 C 均呈直线正相关关系,说明作为抗氧化物的维生素 C 在房水和晶状体核中对作为抗氧化物酶的 SOD 有正相关作用。通过增加房水、晶状体核中维生素 C 的含量可使房水中 SOD 活性得到增加。这就提示可通过体外补充维生素 C,使房水中 SOD 活性得到增强。维生素 C 特殊的烯醇结构与超氧自由基反应,消除超氧自由基。其抗氧化机制为其分子中 2 位和 3 位碳原子的两个烯醇式羟基极易解离,释放出 H 离子,与自由基的单电子结合使自由基失活,而自身被氧化成脱氢维生素 C。这种氧化型与还原型维生素 C 之间可相互转变,在生物组织中形成一个氧化还原体系。

5.3. 小梁网

小梁网细胞的氧化损伤也是近些年来研究的热点。许多学者已经通过实验论证了这一病理改变。体外诱导小梁网细胞 OS 可使其发生典型的原发性开角型青光眼(primary open-angle glaucoma, POAG)样改变细胞外基质(Extral Cellular Memberma, ECM)堆积、细胞死亡、细胞骨架结构紊乱和炎症标志物释放等),如果用抗氧化物和降眼压物质(前列腺素类似物、受体阻断剂和碳酸酐酶抑制剂)预处理则可明显减少这种改

变。而这种病理改变的分子机制是什么,同样也有许多学者作出了探究。持续的 OS 可诱导小梁网细胞线粒体产生内源性活性氧,进而诱导核因子 KB(一种核转录蛋白,可调节许多基因的表达,进而调节凋亡、炎症自身免疫反应等一系列病理过程)的活化和促炎性因子(如白细胞介素、内皮细胞白细胞黏附分子等)的表达,同时活性氧还破坏线粒体膜电位,最终导致小梁网损伤,房水流出受阻。在对 POAG 患者的研究中发现,OS 在小梁网细胞引起的 DNA 损伤与眼内压的升高和视野丧失显著有关。而在 DNA 的损伤中,持续的 OS 使 miR-29b(一种微 RNA)负调控 ECM 相关基因表达的功能下降,进而促进了小梁网处 ECM 沉积,使得房水流出受阻。在 POAG 患者小梁网细胞一氧化氮合酶(Nitric Oxide Synthase, NOS2)的表达和活性均增加,且增加的程度与视野丧失程度成比例,增加的 NOS2 还能导致小梁网组织内氧亚硝基阴离子 ONOO⁻水平增加,进一步说明 POAG 患者小梁网内亦遭受氧化损伤。除此之外,在眼前节,与角膜和虹膜相比,小梁网组织 OS 的敏感性最高,这可能是由于角膜和虹膜直接暴露在阳光下,它们具有抗氧化防御机制,而小梁网则缺乏这一机制^[15]。OS 在青光眼发病机制中具有重要的作用,抗氧化治疗显然成为学者们的研究热点。在 OS 引起的组织损伤中,自由基的作用不容忽视。具有清除自由基作用的药物对神经的保护已经在多项试验中得到证明。细胞自身抗氧化损伤防御机制包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),谷胱甘肽系统和硫氧还蛋白系统研究发现 POAG 患者房水中抗氧化酶:谷胱甘肽过氧化物酶、SOD 及丙二醛(malondial. Dehyde, MDA)酶的水平均升高,且 MDA 酶的水平与视野丧失的严重程度相关。但是 POAG 患者的整体抗氧化状态明显下降,局部使用多佐胺(碳酸酐酶抑制剂)可减少 OS 产生。还有研究建议,肌酸、O_t 硫辛酸、烟酰胺以及儿茶素等均可起到抵抗 OS 的作用,口服即可,且没有明显的不良反应。在一些天然食物中也存在抗氧化物质。银杏中的多酚黄酮可在线粒体水平减少 OS,黑巧克力和红酒等也含有具有清除自由基功能的多酚脂类化合物。此外,覆盆子中的花青素,维生素 C 也具有较强的抗氧化作用。目前多数抗氧化治疗还停留在试验阶段,还需要进一步进行大量的临床试验。关于抗氧

化治疗与降眼压治疗是联合使用还是单独使用,有赖于青光眼的临床表现与分型。

5.4. 晶状体

研究证实,晶状体上皮细胞凋亡是除先天性白内障以外的所有类型白内障形成的细胞学基础^[16],而氧化损伤是细胞凋亡的重要原因之一。晶状体上皮细胞的凋亡是由于人体内氧化反应产生的自由基作用于眼球的晶状体所致。因此具有抗氧化作用的维生素 C 可以阻止体内产生自由基的氧化反应的发生,抑制晶状体上皮细胞凋亡而延缓或抑制白内障的发生。冯江虹^[17]在抗氧化营养素对老年性白内障的研究中指出,机体内抗氧化酶活力下降,致机体和细胞受过氧化物损伤,脂质过氧化物产生增多,是导致视力下降,白内障病情加重的主要原因。通过增加抗氧化营养素来提高抗氧化酶的活力,对预防、控制初发期老年性白内障的发生、发展有很好的作用。在老年性白内障的早期使用含有抗氧化营养素的滴眼液及联合口服适当剂量的维生素 C 等药物是防止疾病发生发展的最佳治疗方案,能够改善老年人生活质量,降低致盲率。

5.5. 视网膜

由于视网膜的代谢活跃、耗氧量高、不饱和脂肪酸含量高,且经常暴露于可见光下,所以容易受到氧化损伤,可能是造成多种视网膜脉络膜病变的发病原因。视网膜色素上皮(Retinal Pigment Epithelium, RPE)由排列规则的单层六角形细胞构成,位于视网膜神经上皮层和 Bruch 膜之间,由于其特殊的解剖学位置,它在视网膜中起着重要的作用^[18]。正常情况下,每个视网膜色素上皮细胞终生不断地自我更新消化,维护和保证视杆、视锥细胞对光信号的接收和传递,同时调控营养物质由脉络膜毛细血管向视杆、视锥细胞运送,消化、吞噬排泄来自视锥细胞和视杆细胞脱落的盘膜,维持细胞内外代谢的平衡。研究发现 RPE 细胞在吞噬盘膜的同时,可产生大量过氧化物^[19]。随着年龄的增长,每个 RPE 细胞的负担加重,一些降解物质的蛋白分子受慢性光毒作用的损伤,诱发自由基反应,进而攻击感光细胞外节盘膜上的大量不饱和脂肪酸,引起感光细胞外节盘膜分子构型的改变,使其不能被消化酶识别和分解,结果使未被完全消化的盘膜

残余小体(residual bodies)滞留于基底细胞原浆中,并向细胞外排出,沉积于 Bruch 膜形成玻璃膜疣。同时 RPE 内部的脂褐素能随年龄的增加而增加,并能介导和增强脂质过氧化物反应,促使溶酶体破裂, DNA 断裂,细胞凋亡^[20]。因此,抗氧化物质维生素 C 就起到了氧化平衡作用。马臻等^[21]研究证明高水平的抗氧化剂维生素 C,可明显减少了进展期干性年龄相关性黄斑变性和相关视力丧失的风险。陈文华等^[22]研究了糖尿病视网膜病变患者血清抗氧化酶活性及非酶类抗氧化物、氧化应激代谢产物的水平,结果证明了糖尿病视网膜病变患者体内存在着强烈的氧化应激反应,而维生素 C 可以很好的起到平衡氧化应激反应的作用。马臻等研究证明高水平的抗氧化剂维生素 C,可明显减少了进展期 AMD 和相关视力丧失的风险。

6. 结语

氧化应激损伤是一系列疾病的共同病理过程之一,包括许多眼部相关疾病也与此有关。那么,如果能明确哪些眼部疾病是氧化应激导致的,并能用抗氧化药物维生素 C 治疗,将对延缓因氧化应激损伤所致眼部疾病的治疗提供依据,从而可以提高多数病人的生活质量,而且能够极大地降低相应疾病带来的社会经济负担。国内外对于维生素 C 抗氧化的应用及其将其制备成局部用药的研究方兴未艾,具有广阔的研究前景。

参考文献 (References)

- [1] Adiel, B., Lawrence, S.M. and Tzipora, G. (2001) Ceramide a potential mediator of apoptosis in human retinal pigment epithelial cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **42**, 247-252.
- [2] Cai, J., Nelson, K.C., Wu, M., et al. (2000) Oxidative damage and protection of the RPE. *Progress in Retinal and Eye Research*, **19**, 205-219.
- [3] Finkel, T. and Holbrook, N.J. (2000) Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, **408**, 239-247.
- [4] Holbrook, N.J. and Ikeyama, S. (2002) Age-related decline in cellular response to oxidative stress: Links to growth factor signaling pathways with com m on d effects. *Biochemical Pharmacology*, **64**, 999-1005
- [5] Chance, B., Site, H. and Boveris, A. (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, **59**, 527-605.
- [6] 李玲娜, 周崧, 易静 (2005) 质膜上的 ROS 制造者——NOX 家族. *生命科学*, **17**, 414-418.
- [7] 周崧, 易静 (2006) 信号配体诱导的 ROS 生成. *细胞生物学杂志*, **28**, 656-660.
- [8] 冯京海, 张敏红, 郑姗姗, 谢鹏, 李军乔 (2006) 日循环高温

- 对肉鸡线粒体 ROS 产生量、钙泵活性及胸肌品质的影响. *畜牧兽医学报*, **37**, 1304-1311.
- [9] Bolwell, G.P. and Wojtaszek, P. (1997) Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **51**, 347-366.
- [10] 焦春香 (2006) 活性氧与植物防卫反应. *大理学院学报*, **10**, 73-79.
- [11] Amany, A., Mahmoud, S., Sawsan, H., et al. (2006) Chromium-picolinate induced ocular changes: Protective role of ascorbic acid. *Toxicology*, **226**, 143-151.
- [12] Shimmura, S., Masumizu, T., Nakai, Y., et al. (1999) Excimer laser-induced hydroxyl radical: Formation and keratocyte death *in vitro*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **40**, 1245-1249.
- [13] Niizuma, T., Ito, S., Hayashi, M., et al. (1994) Cooling the cornea to prevent side effects of photorefractive keratectomy. *Journal of Refractive Surgery*, **10**, 262-266.
- [14] Kasetsuwan, N., Wu, F.M., Hsioh, F., et al. (1999) Effect of topical ascorbic acid on free radical tissue damage and inflammatory cell influx in the cornea after excimer laser corneal surgery. *Archives of Ophthalmology*, **117**, 649-665.
- [15] Lzzotti, A., Sacch, S.C., Longobardi, M., et al. (2009) Sensitivity of ocular anterior chamber tissues to oxidative damage and its relevance to the pathogenesis of glaucoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **50**, 5251-5258.
- [16] Zhou, Z.B., Ding, H.Q. and Qin, F.J. (2003) Effect of Zn7-metallothionein on oxidative stress in liver of rats with several thermal injury. *Acta Pharmacologica Sinica*, **24**, 764-770.
- [17] 冯江虹 (2012) 抗氧化营养素对老年性白内障发生发展的影响. 硕士学位论文, 山西医科大学, 太原.
- [18] 张钧, 盛耀华 (2000) 视网膜色素上皮细胞移植的研究. *眼科新进展*, **4**, 309-312.
- [19] Becquet, F., Goureau, O. and Soubrane, G. (1994) Superoxide inhibits proliferation and phagocytic internalization of photoreceptor outer segment by bovine retinal pigment epithelium *in vitro*. *Experimental Cell Research*, **212**, 374-382.
- [20] Waasell, J., Davies, S., Bardsley, W., et al. (1999) The photoreceptor activity of the retinal age pigment lipofuscin. *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 23828-23832.
- [21] Ma, Z. and Wang, Y.S. (2013) Recent progress of drug treatment to age-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi (International Eye Science)*, **13**, 289-291.
- [22] 陈文华, 郭欣, 邢燕, 等 (2010) 糖尿病及其视网膜病变患者氧化应激状态的评价. *中国全科医学*, **11**, 1173-1175.