

氧化应激影响移植后皮瓣愈合的研究进展

高子浚 张皓 李春霖 邓国英

摘要 皮瓣移植术是临床修复组织缺损、畸形等的一种常用方法,移植后皮瓣成活的问题仍有待解决。术后皮瓣愈合情况受多种因素影响,主要与氧化应激过程及其产物活性氧自由基(ROS)密切相关。氧化应激影响移植后皮瓣愈合情况的主要途径有①ROS直接攻击细胞造成细胞衰老、损伤和凋亡;②炎症反应;③影响血供等。药物干预通过清除过量ROS,抑制细胞凋亡,减轻炎症反应和改善血供状况等途径促进移植后皮瓣愈合,可有效提高皮瓣移植术后的皮瓣成活率。氧化应激是当下研究热点之一,但氧化应激与移植后皮瓣愈合相关性的研究相对较少。该文对氧化应激对皮瓣愈合影响的研究进展作一综述。

关键词 氧化应激;移植后皮瓣愈合;活性氧自由基

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2021.01.009

皮瓣由有血液供应的皮肤与其皮下脂肪组织共同组成。皮瓣移植术是整形外科在组织缺损或畸形修复与器官再造中的最常用方法,可有效提高患者生活质量。1972年 Harii 等完成了临床上第一例游离皮瓣移植并取得成功。此后,吻合血管的皮瓣移植术广泛应用于临床,导致各种创伤(面)的修复方法发生巨大变革。然而在目前的临床应用中,移植后皮瓣成活问题仍较为棘手,带蒂皮瓣的坏死率高达20.69%^[1-2]。皮瓣一旦发生坏死,患者将面临第二次手术甚至更严重的后果,患者痛苦增加。因此,提高移植后皮瓣存活率是目前皮瓣移植相关研究的重点方向之一。

皮瓣移植术后的愈合情况受多种因素影响,如血供状况和局部化学物质浓度等^[3-6]。其中关键性因素为皮瓣血运状况,如血流灌注压的高低、断端血管与创面边缘相互吻合连接的时效性,以及皮瓣基底床毛细血管向皮瓣内新生长入的速度等^[7]。这些因素均与氧化应激密切相关,氧化应激产生的活性氧等物质会直接攻击细胞,造成细胞衰老、凋亡、坏死,引起和放大局部炎症反应,并直接影响皮瓣

血供。

1 氧化应激过程与活性氧自由基蓄积

氧化应激是氧化还原生物学与医学中的重要概念^[8],它是指机体在内外环境因素的刺激下,体内氧化与抗氧化机制失衡,体内的活性氧自由基(ROS)和活性氮自由基(RNS)积累导致的一种病理生理状态^[9]。ROS包括羟自由基、超氧阴离子和过氧化氢等,RNS则包括过氧化亚硝酸自由基及其质子形式过氧亚硝酸等。目前研究主要聚焦于ROS,而RNS相关研究较少,且RNS主要下游机制与ROS有相似之处。

根据来源不同,ROS可分为内源性和外源性两种。外源性ROS主要来自于电离辐射^[10]和各种化学物质刺激^[11]等,内源性ROS主要由线粒体在氧化磷酸化过程中产生。线粒体中的高氧环境和呼吸链产生的大量漏出电子可以还原氧分子,ROS由此形成^[12]。内源性ROS和RNS形成的一般过程详见下页图1^[13]。

在一定条件下,机体内ROS可能过量蓄积,ROS强大的氧化作用可造成缺血-再灌注损伤以及组织器官衰老等不良后果,导致局部发生组织损伤甚至缺血坏死,由此对机体造成不可逆伤害^[14]。在机体可调节范围内,抗氧化酶系统分泌的超氧化物歧化酶(SOD)和还原型谷胱甘肽等物质可清除过量的ROS^[15]。

基金项目:上海交通大学转化医学交叉研究基金(ZH2018QNA20)、上海市科技人才项目(19YF1440000)

作者单位:201620, 上海交通大学附属第一人民医院创伤中心(高子浚、张皓、李春霖、邓国英);200025, 上海交通大学医学院一院临床医学院(高子浚、张皓)

通信作者:邓国英 E-mail: parisdeng2012@hotmail.com

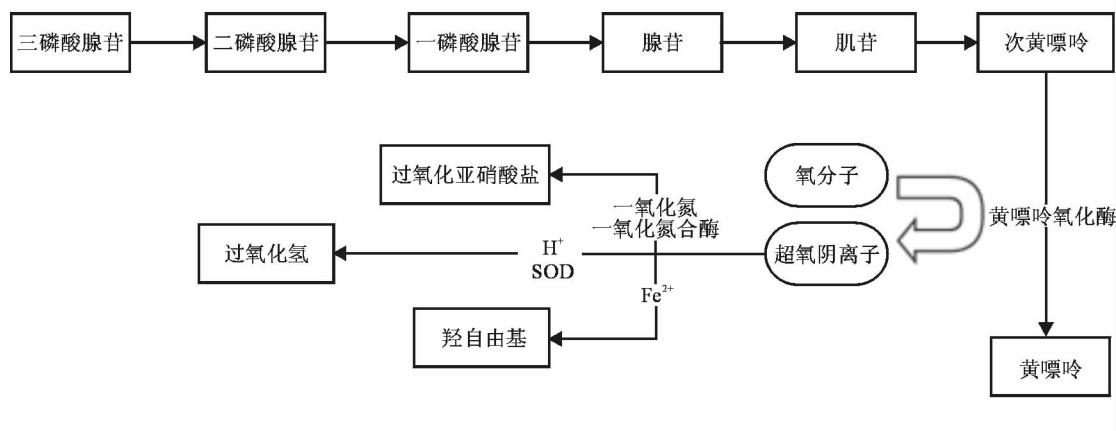


图 1 活性氧(氮)自由基的形成机制

2 ROS 的损伤机制

在机体氧化应激状态下积累的 ROS 可通过氧化作用,造成多种损伤,其损伤机制主要包括以下几方面:

ROS 可攻击多聚不饱和脂肪酸,引起脂质过氧化,导致细胞膜流动性降低和通透性增加,促进两层细胞膜之间的磷脂交换,破坏跨膜蛋白原有的结构性质;ROS 还可攻击 DNA,造成 DNA 碱基缺失和链交联、断裂等。ROS 对正常细胞各组分的氧化修饰将最终导致细胞衰老和损伤^[16]。

ROS 可通过多种途径诱导细胞凋亡。诱导凋亡的主要途径包括线粒体依赖途径和非线粒体依赖途径。在线粒体依赖途径中,氧化应激主要促进 Ca^{2+} 介导的线粒体膜孔形成,被氧化的心磷脂与细胞色素 c 的亲水性降低,细胞色素 c 则可穿过线粒体膜并进入细胞质基质,procaspase-9 与细胞色素 c 和凋亡蛋白酶激活因子-1 共同形成多蛋白凋亡小体,最终产生 caspase-9 并启动细胞凋亡,这个过程也有与氧化应激关系密切的 B 淋巴细胞瘤/白血病(Bcl)-2 蛋白家族参与^[17];氧化应激也可影响非线粒体依赖途径,例如 ROS/一氧化氮(NO)等可下调细胞型含死亡域的 Fas 结合蛋白样白细胞介素(IL)-1 β 转换酶抑制蛋白(c-FLIP),从而启动泛素-蛋白酶体和死亡受体 FasL/FasR、肿瘤坏死因子(TNF)- α 及其受体(TNFR)1、死亡配体及其受体 Apo3L/DR3、Apo2L/DR4 和 Apo2L/DR5 等凋亡机制^[18]。ROS 还可高效激活凋亡信号调节激酶(ASK)1 信号小体,加速细胞凋亡^[19]。

ROS 可直接诱导激活核因子(NF)- κ B、激活蛋白(AP)-1、信号转导及转录激活因子(STAT)3 以及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等,从而激活炎症

级联反应,生成 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症介质^[20],动员肥大细胞、嗜中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞和淋巴细胞等各种免疫细胞参与炎症反应^[21]。

3 ROS 对移植后皮瓣愈合的不利影响

近年来有研究表明,氧化应激对软组织移植、骨重塑和关节置换术的成功率均有影响^[22-23]。皮瓣移植可在不同程度上对原有血供造成破坏,移植后的皮瓣愈合对重建血供存在依赖^[24]。局部血流灌注压发生改变和断端血管未及时与创面边缘相吻合等因素均会导致重建血供不能及时长入,以及原有血供功能不良,这是皮瓣移植后不能成活的重要原因^[25]。氧化应激不仅是血管损伤和内皮功能障碍的始动因素,而且与游离皮瓣移植后局部缺血引起的缺血-再灌注损伤也密切相关,由氧化应激产生的大量 ROS 是缺氧-再灌注损伤影响移植后皮瓣愈合的主要原因之一^[26]。这一观点已得到有关灵芝多糖肽对于皮瓣缺血-再灌注损伤的保护作用研究证实^[27]。移植后皮瓣愈合与氧化应激关系密切。

氧化应激产生的 ROS 可直接损伤移植皮瓣局部细胞,使其凋亡或坏死。局部血管内皮细胞肿胀,血管壁增厚和细胞因子增多等^[28],均可导致血管收缩和毛细血管通透性增加,造成微循环障碍和缺血组织损伤^[29-30],进一步加重细胞损伤。

氧化应激可放大局部炎症反应,促进纤维组织化和异位骨化等^[31],不利于移植后皮瓣愈合。由 ROS 引发的炎症级联反应不仅可以直接引起移植处大量炎细胞浸润,而且可以通过增加黏附分子表达,增强炎症细胞与内皮细胞的黏附,从而降低血管内皮细胞活力。炎症级联反应还可以直接刺激巨噬细胞并使其融合,由此调节软组织重塑过程^[32]。在

ROS的诱导下,由大量成纤维细胞、内皮细胞和间充质干细胞形成的肉芽组织可延长移植后皮瓣愈合时间。氧化应激可放大局部炎症反应,影响局部微循环并形成恶性循环,最终影响移植后皮瓣愈合修复。

氧化应激可影响移植皮瓣的局部血供,造成局部组织发生缺血损伤和血管舒缩功能受损等不良后果。氧化应激反应可通过氧化还原敏感信号通路活化蛋白激酶、蛋白酪氨酸激酶等,并失活蛋白酪氨酸磷酸酶,从而特异性诱导血管平滑肌细胞增殖、分化和凋亡,引发黏附分子过表达、单核细胞迁移和细胞外基质蛋白沉着等一系列反应,不利于重构的移植皮瓣局部血供的建立。过量ROS会使血管系统中的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)氧化酶和黄嘌呤氧化酶含量上升,并诱导血管紧张素Ⅱ过量生成,从而改变血管紧张度和局部血压,加重局部缺血情况。过量ROS还会使内皮型一氧化氮合酶(eNOS)解偶联,改变氧化还原状态。细胞内eNOS主要以L-精氨酸为底物并以四氢生物蝶呤(BH4)作为辅助因子,可合成NO。氧化应激产生的过量ROS使BH4因氧化而耗竭,导致eNOS解偶联,NO生成受抑制,从而损伤血管结构和功能。由氧化还原状态发生改变所致的血管内皮细胞内的 Ca^{2+} 浓度增加可引起血管收缩,血管内皮依赖性舒张功能也因此受损^[33]。

4 减轻氧化应激对皮瓣愈合影响的对策

大量研究表明,抗氧化剂可中和过量ROS并减轻细胞衰老、损伤程度,从而保护移植皮瓣。还原型谷胱甘肽^[34]、SOD^[35]、二甲基亚砷^[36]和维生素^[37]等物质均有助于皮瓣愈合。灵芝多糖肽通过上调硫氧还蛋白-1表达,可直接清除过量ROS,在皮瓣缺血-再灌注损伤中具有保护作用。

除抗氧化剂之外,部分药物也可以通过抑制细胞凋亡、减轻局部炎症反应和改善局部血供情况等途径减轻氧化应激影响,从而促进移植后皮瓣愈合。麝香酮^[38]、红景天苷^[39]和白藜芦醇^[40]等抗细胞凋亡剂均可抑制细胞凋亡并促进皮瓣愈合;利多卡因^[41]、柚皮苷^[42]、仙茅苷A^[43]等抗炎药物可减少由氧化应激产生的炎症细胞和炎性介质,从而减轻炎症反应并促进皮瓣愈合;灯盏花素可以通过扩张血管调整血液流变学异常,降低血流阻力和降低血栓形成风险,对大鼠移植后的皮瓣具有保护作用^[44],可作为提高移植后皮瓣存活率的临床用药;硝酸盐饮

食可以调节体内NO含量,从而调节血流量以及血管生成和舒缩情况,对缺血皮瓣也有保护作用^[25]。

近年来,有关氧化应激对于皮瓣愈合的不利影响的相关药物研究方兴未艾。Lin等^[45]研究发现,银杏内酯B可以通过降低Bax/Bcl-2和caspase-3水平抑制氧化应激反应并诱导血管生成,从而提高皮瓣存活率。Chen等^[46]研究发现,骨化三醇可通过促进血管生成减少氧化应激的影响,从而显著提高皮瓣存活率。Cheng等^[47]的研究也证实,替罗非班可促进血管生成并抑制炎症反应,以此抑制氧化应激作用并提高皮瓣成活率。

5 结语

皮瓣移植术后的皮瓣愈合情况受多种因素影响,且大部分因素与氧化应激过程密切相关。氧化应激过程可导致体内生成的ROS和RNS过量积累,它们可直接攻击移植皮瓣局部细胞DNA、脂质和蛋白质等成分,从而造成血管内皮细胞衰老、损伤和凋亡。ROS可引起体内炎症级联反应,促进大量活化的炎症细胞在皮瓣移植部位浸润。ROS也可影响新生血管重建,导致血供损伤,并在缺血-再灌注损伤中发挥重要作用。上述情况均不利于移植后皮瓣愈合。药物干预可通过清除过量氧化应激产物,抑制细胞凋亡以及减轻炎症反应和促进血供重建等途径,促进移植后皮瓣的成活。

氧化应激是当下国内外生物学和医学领域的研究热点之一,而氧化应激与皮瓣愈合的相关性研究仍相对较少,因此研究氧化应激对皮瓣愈合的影响具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 王白石,杨红岩,韩岩. 预注射脂肪干细胞对皮瓣血运影响的实验观察[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(36): 2912-2916.
- [2] Li X, Cui J, Maharjan S, et al. Reconstruction of the foot and ankle using pedicled or free flaps: perioperative flap survival analysis[J]. PLoS One, 2016, 11(12): e0167827.
- [3] Yoon AP, Jones NF. Critical time for neovascularization/angiogenesis to allow free flap survival after delayed postoperative anastomotic compromise without surgical intervention: a review of the literature[J]. Microsurgery, 2016, 36(7): 604-612.
- [4] Topp SG, Zhang F, Chatterjee T, et al. Role of nitric oxide in surgical flap survival[J]. J Am Coll Surg, 2005, 201(4): 628-639.
- [5] Francis A, Baynosa RC. Hyperbaric oxygen therapy for the compromised graft or flap[J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2017, 6(1): 23-32.

- [6] Hersant B, La Padula S, Sidahmed-Mezi M, et al. Use of platelet-rich plasma (PRP) in microsurgery[J]. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*, 2017, 118(4): 236-237.
- [7] Xie XG, Zhang M, Dai YK, et al. Combination of vascular endothelial growth factor-loaded microspheres and hyperbaric oxygen on random skin flap survival in rats[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(3): 954-958.
- [8] Seis H. Oxidative stress; introductory remarks [M]. London: Academic Press, 1985.
- [9] Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine[J]. *Redox Biology*, 2015, 4: 180-183.
- [10] Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury [J]. *Cancer Lett*, 2012, 327(1-2): 48-60.
- [11] da Silva J. DNA damage induced by occupational and environmental exposure to miscellaneous chemicals [J]. *Mutat Res*, 2016, 770(Pt A): 170-182.
- [12] Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease; curiosity, cause, or consequence? [J]. *Lancet (London, England)*, 1994, 344(8924): 721-724.
- [13] Glass GE, Nanchahal J. Why haematomas cause flap failure; an evidence-based paradigm [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2012, 65(7): 903-910.
- [14] Wang J, Toan S, Zhou H. New insights into the role of mitochondria in cardiac microvascular ischemia/reperfusion injury[J]. *Angiogenesis*, 2020, 23(3): 299-314.
- [15] 云博, 吴景东. 氧化应激与相关疾病及其作用机制[J]. *沈阳医学院学报*, 2018, 20(3): 272-276.
- [16] 翟玥, 邓国英, 王秋根, 等. 活性氧与激素性股骨头坏死 [J]. *国际骨科学杂志*, 2017, 38(2): 102-105.
- [17] Sinha K, Das J, Pal PB, et al. Oxidative stress; the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis [J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(7): 1157-1180.
- [18] Wang L, Azad N, Kongkaneramt L, et al. The Fas death signaling pathway connecting reactive oxygen species generation and FLICE inhibitory protein down-regulation[J]. *J Immunol*, 2008, 180(5): 3072-3080.
- [19] Soga M, Matsuzawa A, Ichijo H. Oxidative stress-induced diseases via the ask1 signaling pathway[J]. *Int J Cell Biol*, 2012, 2012: 439587.
- [20] Yu JH, Kim H. Oxidative stress and inflammatory signaling in cerulein pancreatitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(46): 17324-17329.
- [21] Mouthuy PA, Snelling SJB, Dakin SG, et al. Biocompatibility of implantable materials; an oxidative stress viewpoint[J]. *Biomaterials*, 2016, 109: 55-68.
- [22] Hameister R, Kaur C, Dheen ST, et al. Reactive oxygen/nitrogen species (ROS/RNS) and oxidative stress in arthroplasty[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2020, 108(5): 2073-2087.
- [23] Domazetovic V, Marcucci G, Iantomasi T, et al. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants[J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 2017, 14(2): 209-216.
- [24] Wang WZ, Baynosa RC, Zamboni WA. Update on ischemia-reperfusion injury for the plastic surgeon: 2011 [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2011, 128(6): 685e-692e.
- [25] Cui H, Wang Y, Feng Y, et al. Dietary nitrate protects skin flap against ischemia injury in rats via enhancing blood perfusion[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 515(1): 44-49.
- [26] Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: the evolution of a concept[J]. *Redox Bio*, 2015, 6: 524-551.
- [27] Ren H, Meng X, Yin J, et al. Ganoderma lucidum polysaccharide peptide attenuates skin flap ischemia-reperfusion injury in a thioredoxin-dependent manner [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2018, 142(1): 23e-33e.
- [28] Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms [J]. *Hypertension*, 2003, 42(6): 1075-1081.
- [29] 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.
- [30] van den Heuvel MG, Buurman WA, Bast A, et al. Review: ischaemia-reperfusion injury in flap surgery [J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2009, 62(6): 721-726.
- [31] Freeman TA, Parvizi J, Dela Valle CJ, et al. Mast cells and hypoxia drive tissue metaplasia and heterotopic ossification in idiopathic arthrofibrosis after total knee arthroplasty [J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2010, 3:17.
- [32] Quinn MT, Schepetkin IA. Role of NADPH oxidase in formation and function of multinucleated giant cells[J]. *J Innate Immun*, 2009, 1(6): 509-526.
- [33] 陈春梅, 刘维军. 氧化应激与高血压的论述[J]. *中西医结合心血管病杂志(电子版)*, 2017, 5(1): 1-12.
- [34] Coban YK, Ergun Y, Ciralik H. Depletion of glutathione by buthionine sulfoximine decreases random-pattern skin flap viability in rats[J]. *J Surg Res*, 2007, 143(2): 247-252.
- [35] Hawkes JS, Young CM, Cleland LG. Ischaemia reperfusion injury in pedicle skin flaps in the pig: lack of protective effect of SOD and allopurinol[J]. *Br J Plast Surg*, 1989, 42(6): 668-674.
- [36] Carpenter RJ, Angel MF, Morgan RF. Dimethyl sulfoxide increases the survival of primarily ischemic island skin flaps [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1994, 110(2): 228-231.
- [37] Hassanpour SE, Rostami K, Azargashb E, et al. The effect of topical vitamin A and E on ischemic random skin flap survival[J]. *World J Plast Surg*, 2019, 8(1): 58-61.
- [38] Zhou K, Zhang Y, Lin D, et al. Effects of muscone on random skin flap survival in rats[J]. *J Reconstr Microsurg*, 2016, 32(3): 200-207.

- [39] Chen D, Zhou K, Weng W, et al. Salidroside promotes random skin flap survival in rats by enhancing angiogenesis and inhibiting apoptosis[J]. *J Reconstr Microsurg*, 2016, 32(8): 580-586.
- [40] Lin J, Lin R, Li S, et al. Protective effects of resveratrol on random-pattern skin flap survival: an experimental study[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(1): 379-392.
- [41] Eskitascioglu T, Karaci S, Canoz O, et al. The impact of lidocaine on flap survival following reperfusion injury[J]. *J Surg Res*, 2011, 167(2): 323-328.
- [42] Cheng L, Chen T, Tu Q, et al. Naringin improves random skin flap survival in rats[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 94142-94150.
- [43] Chen T, Tu Q, Cheng L, et al. Effects of curculigoside A on random skin flap survival in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 8(34): 281-287.
- [44] 王智, 鄧克謙, 許志鵬, 等. 灯盏花素对大鼠岛状皮瓣血流变学和氧化应激的影响[J]. *实用医院临床杂志*, 2014, 11(2): 12-15.
- [45] Lin D, Wu H, Zhou Z, et al. Ginkgolide B improves multiterritory perforator flap survival by inhibiting endoplasmic reticulum stress and oxidative stress[J]. *J Invest Surg*, 2019, 23: 1-7.
- [46] Chen L, Zhou K, Chen H, et al. Calcitriol promotes survival of experimental random pattern flap via activation of autophagy[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(8): 3642-3653.
- [47] Cheng L, Chen T, Li H, et al. Effects of tirofiban on random skin flap survival in rats[J]. *J Reconstr Microsurg*, 2018, 34(2): 138-144.

(收稿日期:2020-10-12)

(本文编辑:富饶)