

DOI: 10.13376/j.cblls/2023082

文章编号: 1004-0374(2023)06-0724-09

从氧化应激视角探讨物质成瘾

韩爽^{1,2,3#}, 张昌林^{1,2,4#}, 陈越^{1,2}, 李自成^{1,2*}

(1 三峡大学基础医学院机能学系, 宜昌 443002; 2 三峡大学国家中医药管理局中药药理科研三级实验室, 宜昌 443002;
3 三峡大学人民医院/宜昌市第一人民医院, 宜昌 443002; 4 宜昌市中心人民医院, 三峡大学第一临床医学院, 宜昌 443003)

摘要: 物质成瘾是一种慢性复发性神经适应障碍, 在全球范围内物质成瘾者基数大, 对当今世界的经济及社会发展造成极大危害。物质成瘾涉及多个脑区、信号转导途径、转运体及受体, 是一个相对复杂的过程。氧化应激是自由基引起的氧化和抗氧化系统失衡的负面反应。有证据表明, 成瘾性物质诱导大脑发生明显的氧化应激反应, 可能为物质成瘾的分子机制研究提供新的线索。本文讨论了在成瘾性物质作用下大脑发生的氧化应激反应以及氧化应激反应对动物行为的影响, 并进一步探讨其分子生物学机制。

关键词: 物质成瘾; 氧化应激; 氧化还原系统

中图分类号: R338; R749.5 **文献标志码:** A

Investigating substance addiction from the perspective of oxidative stress

HAN Shuang^{1,2,3#}, ZHANG Chang-Lin^{1,2,4#}, CHEN Yue^{1,2}, LI Zi-Cheng^{1,2*}

(1 Department of Functional Sciences, College of Basic Medical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 2 Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 3 People's Hospital of Three Gorges University/The First People's Hospital of Yichang, Yichang 443002, China; 4 The First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, China)

Abstract: Substance addiction is a chronic and relapsing neuroadaptive disorder. There are a large number of substance addicts worldwide, which has caused great harm to the economic and social development. Substance addiction is a complex process involving multiple brain regions, signal transduction pathways, transporters and receptors. Oxidative stress is a negative consequence of the imbalance of oxidative and antioxidant systems caused by free radicals. There is evidence suggesting that addictive substances induce a pronounced oxidative stress response in the brain, which may provide new clues to study the molecular mechanisms of substance addiction. In this review, we discuss the neurobiological consequences of oxidative stress in the brain after addictive substance use, as well as the effects of oxidative stress on animal behavior, and further explore the molecular biological mechanisms.

Key words: substance addiction; oxidative stress; redox system

1 物质成瘾与氧化应激的关联

物质成瘾 (substance addiction) 在《精神疾病诊断与统计手册》第 5 版 (DSM-5) 中被定义为物质使用障碍, 是一种慢性复发性精神疾病, 始于摄入者少量接触成瘾性物质, 发展到被迫持续反复摄入, 再到强迫性摄入, 伴有以自我控制失常为核心的慢性复发性神经适应障碍^[1]。常见的成瘾性物质包括吗啡、可卡因、甲基苯丙胺 (methamphetamine, METH)、

乙醇、尼古丁等^[2-6]。根据联合国毒品与犯罪办公室发布的《2021 世界毒品报告》, 2020 年全球约有 2.75 亿人使用成瘾性物质, 其中 15~64 岁的人口中有 5.5% 在 2020 年中至少使用过一次成瘾性物质,

收稿日期: 2022-11-20; 修回日期: 2023-02-07

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81971248)

*共同第一作者

*通信作者: E-mail: zichengli@ctgu.edu.cn

其中 13% 的人 (约 3 630 万人) 患有物质成瘾^[7]。就美国 2018 年的统计, 每年估计与成瘾性物质吸食相关的犯罪、工作效率降低和医疗保健有关费用支出约 7 400 多亿美元^[8]。物质成瘾问题亟待解决。

氧化应激 (oxidative stress, OS) 是一些有害刺激作用于机体, 引起细胞器线粒体及内质网功能异常, 产生较多活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮 (reactive nitrogen species, RNS), 而机体抗氧化能力相对或绝对不足, 机体清除多余有害自由基能力下降, 从而引起细胞或组织损害及功能紊乱的病理过程^[9]。氧化系统主要为自由基和氧化物 (free radicals and oxidative), 包括活性氧自由基和活性氮自由基, 其中 ROS 包括超氧阴离子 O_2^- 、羟基自由基 ($\cdot OH$) 和过氧化氢 (H_2O_2) 等; RNS 包括一氧化氮 (NO)、二氧化氮 (NO_2) 和过氧亚硝酸盐 ($ONOO^-$) 等。抗氧化系统主要包括非酶抗氧化系统和酶抗氧化系统, 其中非酶抗氧化系统主要为谷胱甘肽系统、硫氧还原蛋白系统、维生素 E 和 C、类胡萝卜素、类黄酮和谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 等; 酶抗氧化系统主要为过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)^[10]。氧化应激目前可以通过氧化谷胱甘肽 (oxidized glutathione, GSSG)、 H_2O_2 、 O_2^- 、 $\cdot OH$ 、NO、 NO_2 和 $ONOO^-$ 等血浆生物标志物来评估^[11]。随着人们对物质成瘾及氧化应激相关机制的日益关注, 越来越多的证据表明, 氧化应激参与了物质成瘾的发生和发展。物质成瘾者的氧化应激相关指标较正常人升高, 且氧化应激大多发生在药物停用期间即戒断阶段^[12]。因此, 氧化应激可能为物质成瘾的发生及发展的分子机制研究提供关键线索和理论基础。本文综述了使用部分成瘾性物质后大脑氧化应激的神经生物学后果以及氧化还原系统、氧化剂、抗氧化剂在分子层面上的变化过程。

2 氧化应激与物质成瘾的相互作用

2.1 氧化系统与物质成瘾的相互作用

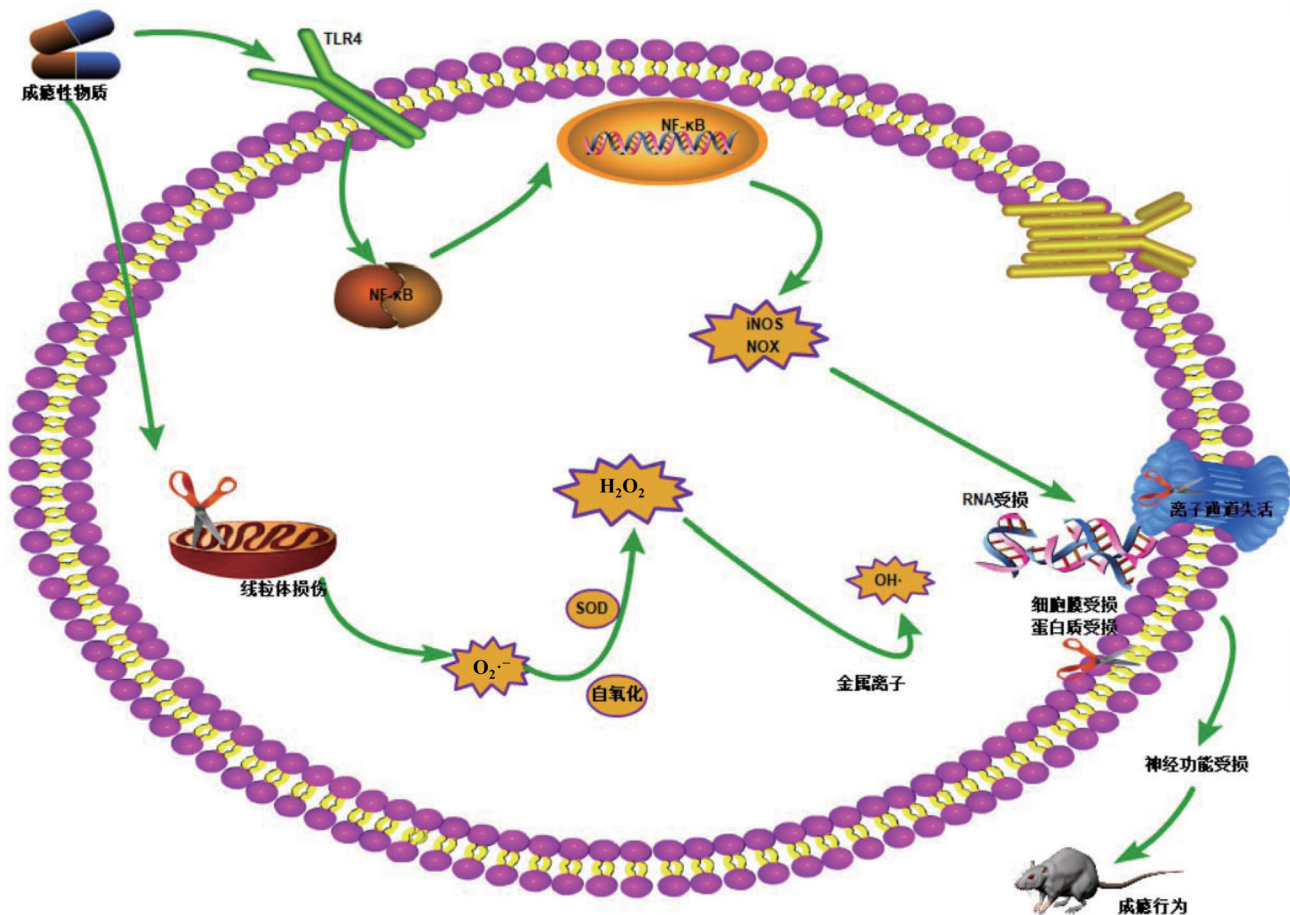
2.1.1 脂质过氧化

活性氧可通过与生物膜的磷脂、酶和膜受体相关的多不饱和脂肪酸 (PUFA) 的侧链及核酸等大分子物质产生脂质过氧化反应, 进而形成脂质过氧化产物, 如丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和 4- 羟基

壬烯酸 (4-hydroxy-2-nonenal, 4-HNE), 改变细胞膜的流动性、通透性, 导致细胞结构和功能发生不可逆的损伤^[13-14]。大脑含有丰富的易过氧化的 PUFA, 代谢旺盛、耗氧多的同时相对缺乏抗氧化酶, 可产生较多的自由基, 使其极易受到氧化失衡的影响^[15]。ROS 引发的脂质过氧化副产物 4-HNE 或 MDA 的半衰期比 ROS 长, 可以扩散到其他部位, 传播氧化应激^[9]。Skrabalova 等^[16]研究表明, 长期吗啡给药可诱发氧化应激, 促进 ROS 及 RNS 产生, 降低靶细胞的抗氧化剂活性, 而给予内源性抗氧化蛋白或外源性抗氧化剂, 可以维持氧化还原平衡, 减轻吗啡摄入个体的成瘾性。另有 Cai 等^[17]研究证实, 吗啡可导致 ROS 连续产生, 用 ROS 清除剂苯基 -n- 叔丁基硝基酮对细胞进行预处理, 可显著抑制吗啡介导的 ROS 生成。MDA 在吗啡处理小鼠大脑中水平逐渐升高, 降脂药阿托伐他汀可使吗啡戒断小鼠体内增加的 MDA 正常化, 减少由吗啡戒断诱导的包括跳跃、震颤、牙齿颤抖、理毛和腹泻等行为^[13, 18](图 1)。

2.1.2 多巴胺氧化

多巴胺 (dopamine, DA) 通过其自发和酶促氧化促进氧化应激的发生。DA 在进入 pH 为中性的突触环境后自发氧化, 形成多巴胺醌和超氧自由基。DA 的氧化也可由过渡金属 (如存在于突触中的铜) 或由环氧合酶 1 和 2 (COX1/2) (也形成多巴胺醌) 和单胺氧化酶 B 催化 DA 脱胺生成 H_2O_2 , 继而产生 $\cdot OH$ ^[19]。中脑皮质边缘 DA 介导的多巴胺转运体 (dopamine transporter, DAT) 和囊泡单胺转运体 2 (vesicular monoamine transporter-2, VMAT2) 相互作用, 可引起 VMAT2 水平下降及背侧和腹侧纹状体细胞外 DA 水平的升高, 最终使转运体不堪重负, 出现反向运输, 产生强化效应并通过酶促降解 DA 产生 H_2O_2 , 诱导氧化应激^[20]。DA 水平升高在成瘾性物质强化效应中起关键作用。故而, DA 促进氧化应激的发生诱发物质成瘾。研究证明, 吗啡能升高神经突触 DA, 继而产生 ROS^[21]。乙醇成瘾可刺激中脑边缘 DA 系统释放的 DA 氧化, 导致活性氧成分增加, 同时释放的 DA 被单胺氧化酶代谢, 产生 H_2O_2 ^[22]。动物实验研究证明, METH 可诱导中脑腹侧、纹状体产生 ROS 和 RNS, 并导致 VMAT2 水平下降; 长期使用 METH 会导致眼眶前额叶皮质、背外侧前额叶皮质、伏隔核和尾壳核中 DA 和 5- 羟色胺降低, 表现为 DAT、5- 羟色胺转运体、5- 羟色胺和 DA 水平的下降^[23]。



摄入成瘾性物质一方面介导线粒体损伤, 另一方面激活NF-κB导致炎症产生, 从而诱使RNA受损、离子通道失活, 导致细胞膜及蛋白质受损, 引起神经功能受损而产生成瘾行为。NF-κB, 核因子-κappa B; H₂O₂, 过氧化氢; iNOS, 诱导型一氧化氮合酶; NOX, NADPH氧化酶; O₂^{•-}, 超氧阴离子; ·OH, 羟基自由基; SOD, 超氧化物歧化酶; TLR4, Toll样受体4。

图1 氧化应激与物质成瘾的相互作用

2.1.3 线粒体功能障碍

在多种生理病理过程中, 线粒体可产生氧化应激反应。在正常情况下, 线粒体可产生 ROS, 且会被抗氧化系统清除掉。但是, 当线粒体功能障碍时激活的 ROS 则可诱导氧化应激的发生。在受损的线粒体中 O₂^{•-} 生成显著增加或者当抗氧化系统耗尽时, H₂O₂ 生成, 在金属离子 (如 Fe²⁺ 和 Cu²⁺) 的作用下, 反应产生高活性和毒性的 ·OH^[24]。·OH 具有强氧化能力, 严重破坏细胞结构, 使膜受体、酶和离子通道失活。线粒体受氧化应激作用后在物质成瘾过程中起到重要作用。此外, ROS 可介导氧化损伤和线粒体功能障碍, 导致肠道损伤及肠道菌群失调^[25]。肠道微生物在物质成瘾中发挥着重要作用。在药物滥用的动物模型中观察到线粒体的变化: Bazylanska 等^[26]证实 METH 可促进纹状体线粒体功能障碍; 给予乙醇、可卡因和吗啡可致线粒体 DNA 改变, 增加了 ROS 的产生^[27]。Zegers-Delgado

等^[28]证明, 长期及短期给予 METH 都会导致大鼠大脑中线粒体功能障碍和氧化应激, 背侧纹状体和伏隔核 (nucleus accumbens, NAc) 的正常线粒体功能被抑制 23%~30%。线粒体 ROS 清除剂 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPOL) 能显著减弱 METH 的自我给药及其诱导的成瘾性活动, 但不影响 METH 成瘾大鼠的一般行为 (图 1)。

2.1.4 神经炎症

众所周知, 成瘾性物质可诱导大脑氧化应激与神经炎症之间的恶性循环。大脑小胶质细胞的表型和基因表达的变化可以响应促炎因子, 增加 NADPH 氧化酶 (NADPH oxidase, NOX) 和诱导型一氧化氮合酶 (inducible NOS, iNOS) 等氧化酶的水平, 产生 ROS 和 RNS。在神经炎症导致线粒体功能障碍的情况下, 神经元表达 NOX 和神经元型 iNOS 过度产生 O₂^{•-} 和 H₂O₂, 影响神经元功能。过多的 ROS 信号传递给小胶质细胞和星形胶质细胞, 通过

激活核因子- κ B (NF- κ B) 增强促炎细胞因子的产生。促炎细胞因子反过来激活小胶质细胞和星形胶质细胞,产生氧化应激。氧化应激和炎症进一步自我增强,形成恶性循环。大量报道表明,长期或短期摄入 METH、吗啡、可卡因和乙醇等成瘾物质可显著诱导大脑氧化应激和神经炎症的产生^[29-31]。姜黄素通过下调 iNOS 并抑制 NF- κ B 的激活发挥抗炎活性及抗氧化作用,可显著减少吗啡依赖的大鼠跳跃、倾斜和腹泻等成瘾性行为,且改善小鼠吗啡成瘾^[32]。吗啡促进 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 的激活,TLR4 激活小胶质细胞 NF- κ B,给予 TLR4 拮抗剂能阻断吗啡成瘾小鼠的条件性位置偏爱 (conditioned place preference, CPP) 并减弱线索诱导的吗啡寻求行为^[33]。非甾体抗炎药物阿司匹林可抑制乙醇成瘾动物的乙醇摄入及海马体的氧化应激的发生。脂氧素 (TLR4 激动剂) 显著抑制乙醇成瘾大鼠的长期乙醇摄入,而给予脂氧素拮抗剂可削弱阿司匹林在逆转乙醇摄入方面的作用^[34]。在尼古丁滥用模型中,长期服用尼古丁还会导致大脑氧化应激,激活 NF- κ B 转录,导致神经炎症;鼻腔内注射活化间充质干细胞产生的抗氧化剂和抗炎分泌体极大地减少了尼古丁诱导的大脑氧化应激和炎症,并导致长期尼古丁自我给药行为显著减少,且完全防止尼古丁复吸^[35](图 1)。

2.2 抗氧化系统与物质成瘾的相互作用

2.2.1 谷胱甘肽还原系统

谷胱甘肽系统是主要的细胞抗氧化系统之一,其中发挥主要抗氧化作用的物质为 GSH,它通过清除自由基保护细胞免受氧化应激,且与 GSSH 之间的平衡对于维持细胞内的氧化还原动态平衡至关重要。内源性抗氧化信号通路——转录因子 NF-E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 下游靶基因可调控 GSH 和谷胱甘肽过氧化物酶 4, Nrf2 与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Keap1) 解偶联的特征结构域分布在细胞质中^[36]。在氧化应激状态下,Keap1-Nrf2 修饰 Keap1 的半胱氨酸残基 Cys273 和 Cys288,使 Nrf2 从 Keap1 中释放,然后 Nrf2 进入细胞核,与转录因子形成异二聚体,进而识别并结合抗氧化应激应答元件 (antioxidant response element, ARE),形成核转录相关因子 2-抗氧化反应元件 (Nrf2-ARE),参与调控下游靶基因的转录和表达,如 II 相解毒酶 (还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸, NADPH)、SOD 和膜转运体,增加细胞抗氧化能力,清除 ROS 和 RNS,纠正细胞氧化

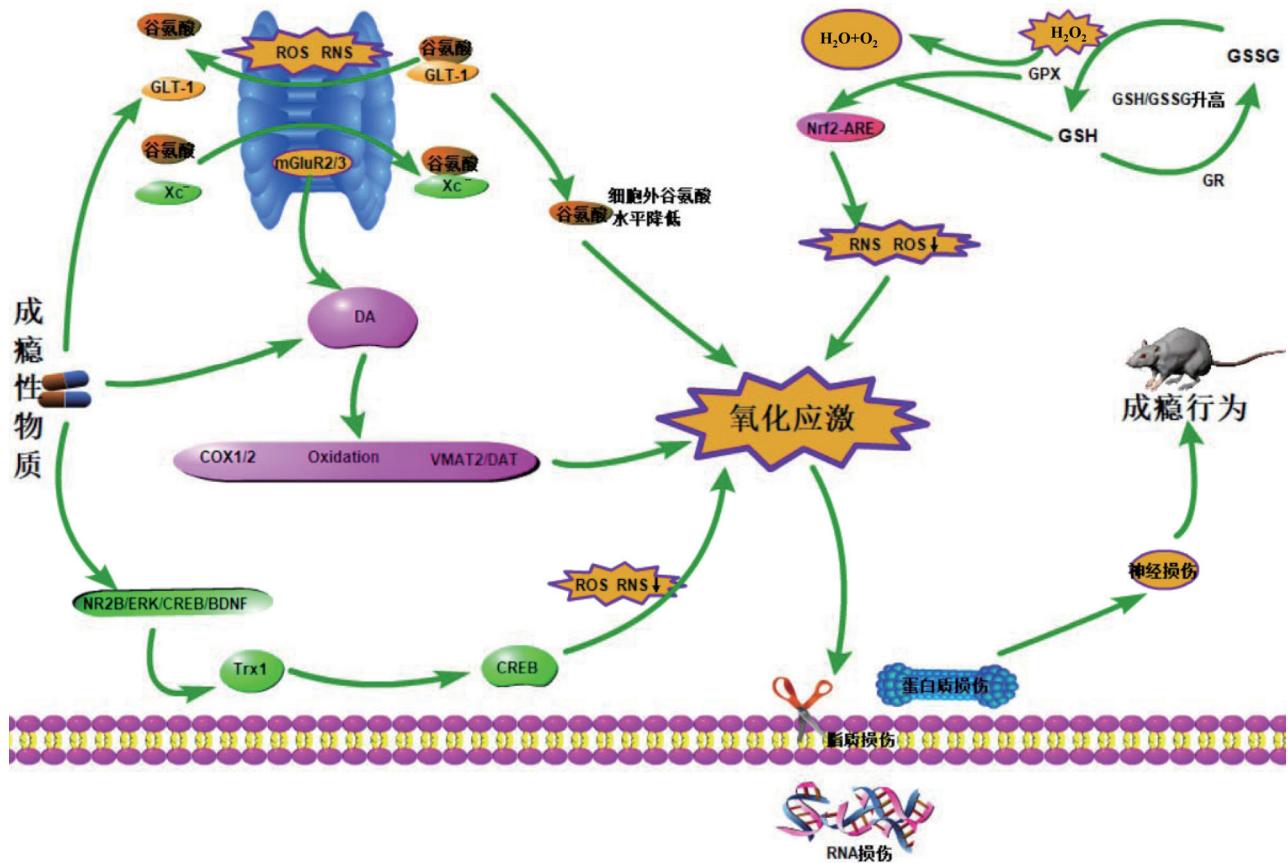
还原失衡^[37]。此外,谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 作为特异性标记物可用于评估氧化应激的程度,GPx 通过 GSH 的氧化催化 H_2O_2 以及还原脂质氢过氧化物生成 H_2O ^[38]。Huang 等^[39]证明,在暴露于吗啡的海马神经元中,NOX 是超氧化物 ROS 的主要来源,NOX 抑制剂显著抑制吗啡介导的 ROS 生成并阻断了 4-HNE 的形成。天然抗氧化剂姜黄素通过提供硫醇基团增强线粒体中 GSH 含量,维持膜完整性,促进羟基自由基非酶解毒^[40-41]。Motaghinejad 等^[42]研究表明,在吗啡成瘾小鼠的大脑中细胞内 GSH 水平降低,给与不同剂量的姜黄素可以防止长期吗啡使用所引起的 GSSG 的形成和 GSH 的耗竭 (图 2)。

2.2.2 硫氧还蛋白系统

硫氧还蛋白 (thioredoxin, Trx) 系统构成了另一个主要的细胞抗氧化系统。Trx 包含三种同工酶,即细胞质 Trx1、线粒体 Trx2 和睾丸特异性 Trx 谷胱甘肽还原酶^[43]。Trx 消耗 NADPH 并将 Trx 的二硫化物形式还原为二硫醇,可清除自由基,保护细胞免受 H_2O_2 伤害,在调节细胞氧化还原平衡中至关重要^[44]。Trx1 是人类与药物成瘾有关的 396 种基因之一,与药物成瘾关系十分密切。Trx1 通过调节多种重要的细胞信号转导途径在物质成瘾及氧化应激中发挥重要作用。

NR2B/ERK/CREB/BDNF 信号通路的激活介导了成瘾的发生。N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 是哺乳动物中枢神经系统中一种介导神经元可塑性、记忆或学习功能的离子型谷氨酸受体。NR2B 是 NMDAR 的一个亚型,它与 NMDAR 的过度激活及 ERK 信号的激活密切相关。Trx1 可激活吗啡处理的 SH-SY5Y 细胞中的 PI3K 和 ERK 通路,而 NR2B-ERK 信号参与了吗啡成瘾发生^[45]。香叶基香叶基丙酮 (geranylgeranylacetone, GGA) 是公认的 Trx1 诱导剂,可通过增强 Trx1 的表达调节 NAc 和海马中的 NR2B/ERK 通路来增强吗啡诱导的行为反应,如多动、奖赏效应和戒断综合征及 CPP 的恢复^[46]。

CREB 是 NR2B/ERK/CREB/BDNF 信号通路的核效应因子,其活性增强可导致药物耐受和依赖,并在戒断过程中起负增强作用。吗啡暴露可增加海马齿状回中 Trx1 的表达,且促肾上腺皮质激素释放因子 1 受体拮抗剂 CP-15,526 的预处理可逆转该现象。García-Carmona 等^[47]发现,海马齿状回中的磷酸化 cAMP 反应元件结合蛋白阳性神经元也表达



摄入成瘾性物质引起氧化系统及抗氧化系统异常，导致氧化应激，诱使RNA受损并导致脂质及蛋白质受损，进而导致神经功能受损并诱发成瘾行为。ROS，氧自由基；RNS，活性氮自由基；COX1/2，环氧化酶1和2；DA，多巴胺；DAT，多巴胺转运体；GLT-1，氨基酸转运体2 (EAAT2)；GR，谷胱甘肽还原酶；GSH，谷胱甘肽；H₂O₂，过氧化氢；H₂O，水；iNOS，诱导型一氧化氮合酶；NOX，NADPH氧化酶；NR2B/ERK/CREB/BDNF信号通路；Nrf2-ARE，核转录相关因子2-抗氧化反应元件；O₂，氧气；Oxidation，氧化作用；Trx，硫氧还蛋白；VMAT2，单胺转运体2；Xc⁻，胱氨酸-谷氨酸反向转运体。

图2 氧化应激与物质成瘾的相互作用

Trx1。当实验动物 CREB 被 Trx1 激活时，吗啡的奖赏效应增加，且观察到服用吗啡后 Trx1 表达增加，导致 CREB 活性的上调，参与吗啡成瘾的发生，导致行为学方面的改变^[48]。METH 也可增加 Trx1 的表达和 CREB 的活性，而 Trx1 的过表达通过调节 CREB 的活性来阻断 METH 诱导的 CPP^[49-50]。ERK 信号涉及 NMDAR 依赖的突触可塑性及转录因子活性的控制，如 RAS/ERK/CREB 信号。Ma 等^[51]及 Mehrafza 等^[52]都证明 METH 上调了蛋白激酶 A (PKA)/CREB 信号通路，在长期 METH 暴露的大鼠大脑皮质边缘环路中，磷酸化 ERK/CREB 信号转导通路上调，Trx1 表达增加并诱导 CPP。NMDAR 激活 ERK 及其重要的上游调节因子 PI3K，METH 可激活 PI3K/Akt 通路诱导 Trx1 表达增加^[53]。有证据表明，吗啡处理后的 SH-SY5Y 细胞中的 PI3K 和

ERK 通路的激活可诱导 Trx1 增加^[54](图2)。

2.2.3 酶抗氧化系统

在酶抗氧化系统中，SOD 和 CAT 是防御氧化应激的第一线组分。抗氧化剂防御和 ROS 之间的不平衡有利于自由基的过量产生，导致氧化应激。SOD 是一种由铜、锌、锰或铁组成活性中心的金属酶，可催化 O₂⁻ 歧化为氧 (O₂) 和 H₂O₂。CAT 作用于 H₂O₂，将其分解成 H₂O 和 O₂^[55-56]。Saify 等^[57]证实，长期使用吗啡降低了肝脏中 SOD 和 CAT 等酶的活性，提示体内氧化应激加剧，使用抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 可逆转这种现象。SOD 作为重要的细胞内抗氧化剂，在吗啡成瘾中起到保护作用。反复给予吗啡可显著降低小鼠脊髓背角线粒体中 MnSOD 亚型的活性，给予超氧化物歧化酶模拟剂则可减弱这种影响^[58](图2)。

2.3 谷氨酸动态平衡与物质成瘾

2.3.1 对谷氨酸转运体的影响

谷氨酸是广泛存在于皮层、海马、NAc 和杏仁核等认知活动相关脑区的重要神经递质,谷氨酸的突触外排和摄取的动态平衡对奖赏记忆形成很重要,参与药物成瘾、药物耐受和戒断的生理过程^[59]。谷氨酸的动态平衡主要依靠体内的谷氨酸转运体来维持。大脑中表达最高的谷氨酸转运体包括星形胶质细胞兴奋性氨基酸转运体 2 (excitatory amino acid transporter 2, EAAT2; 又称 glutamate transporter-1, GLT-1) 和胱氨酸-谷氨酸反向转运体 (Xc⁻)。GLT-1 将谷氨酸从突触间隙中移除并将其转移至星形胶质细胞,而谷氨酸从星形胶质细胞向细胞外空间的转运由另一种转运蛋白 Xc⁻ 完成^[60]。大脑氧化应激通过降低 GLT-1 及 Xc⁻ 的活性来破坏谷氨酸的动态平衡,导致谷氨酸释放增加,从而促进谷氨酸能神经传递来维持成瘾物质的渴求和随后的物质消费^[19,61]。大量证据表明,可卡因、酒精、METH 和尼古丁自我给药后 NAc 中 GLT-1 和 Xc⁻ 的表达降低^[62-64]。半胱氨酸前体药物 NAC 可上调 GLT-1 及 Xc⁻ 活性,将多余的谷氨酸从 NAc 中移除,减少药物消费,显著抑制氧化应激^[19,31]。

Xc⁻ 是一种非钠依赖性逆向转运蛋白,在星形胶质细胞和小胶质细胞中表达,它发挥双重功能,即促进释放的谷氨酸进入突触外空间的同时也促进细胞摄取半胱氨酸^[65-66]。Xc⁻ 的一个关键半胱氨酸残基的氧化可阻止半胱氨酸进入转运体,导致 Xc⁻ 活性抑制,促使机体产生药物诱导的氧化应激^[61]。滥用可卡因后, Xc⁻ 的活性水平降低;给予 NAC 后,胱氨酸交换增加,进而提高 Xc⁻ 转运蛋白的活性,抑制可卡因诱导的成瘾形成及复发^[67]。动物实验证明可卡因及酒精成瘾的大鼠脑中细胞外谷氨酸水平较低,将胱氨酸直接给药到 NAc 中或 NAC 全身给药则可恢复 Xc⁻ 活性,促使细胞外谷氨酸水平正常化,使大脑中促进复发的线索学习的关联性脱离,进而减少可卡因的寻求行为以及乙醇的摄入,逆转大脑氧化应激^[68-69]。

ROS 和 RNS 可以直接抑制 GLT-1 的活性。GLT-1 负责约 90% 的细胞外谷氨酸的摄取,ROS 通过促进半胱氨酸残基的交联抑制谷氨酸的转运^[60]。胱氨酸在还原态和氧化态之间的可逆互变伴随着转运活性的动态变化: O₂⁻ 和 NO 结合形成 ONOO⁻, 通过纯化或重组脂质体中的高亲和力和谷氨酸转运体,可有效抑制谷氨酸的摄取,其中还原状态的活性最大,

氧化态的活性最小。研究表明,促进谷氨酸转运体与 4-HNE 和 4-羟基己烯醛等脂质过氧化产物形成加合物,可降低 GLT-1 的活性及数量,而 ROS 对谷氨酸转运的抑制作用可被体外还原剂完全逆转^[35]。在氧化应激条件下,由于半胱氨酸的巯基被氧化,星形胶质细胞从突触中清除谷氨酸的能力受到损害,导致 GLT-1 失活^[70]。可卡因成瘾动物停止给药 2~3 周后, GLT-1 在 NAc 中减少,而给予 NAC 后可激活 GLT-1,有效抑制可卡因对 CPP 的诱导^[67,71]。在啮齿动物成瘾模型中,移植间充质干细胞(产生内源性抗氧化剂)可导致 GLT-1 活性增加,并显著抑制乙醇和尼古丁成瘾动物的药物寻求行为,脑 GLT-1 敲除可以完全阻止这种作用^[35](图 2)。

2.3.2 对代谢型谷氨酸的影响

代谢型谷氨酸受体 (metabotropic glutamate receptor, mGluR) 是一类通过 G 蛋白与第二信使偶联的跨膜受体,其中 mGlu2 和 mGlu3 组成了位于突触前神经元的抑制性代谢性谷氨酸受体 2 和 3 (mGluR2/3)^[72]。Xc⁻ 活性增加使谷氨酸释放到突触外间隙,激活 mGluR2/3,进而调节体内谷氨酸。体内谷氨酸主要有两部分来源。一部分来自自由囊泡释放维持的神经元,突触囊泡性谷氨酸的释放受 mGluR2/3 和钠依赖转运体的调节, mGluR2/3 激活后减少了突触谷氨酸的释放,促进谷氨酸动态平衡的正常化,改善大脑氧化应激。此外,刺激 mGluR2/3 可以抑制腺苷酸环化酶,随后减少 N 型钙通道的 PKA 系统 (protein kinase A system) 磷酸化,进而减少神经元的囊泡性谷氨酸释放导致的 PKA 激活^[73]。另一部分则来自非囊泡性胶质细胞系统。与 Xc⁻ 结合的非囊泡性谷氨酸释放是纹状体细胞外谷氨酸的主要来源。从 Xc⁻ 中释放的非囊泡性谷氨酸通过向 mGluR2/3 提供内源性渗透压来调节细胞外谷氨酸和 DA 浓度,进而调节体内氧化应激水平^[60]。大量研究报道, METH、乙醇、可卡因成瘾后,大鼠 NAc 和前额叶皮质中的细胞外谷氨酸水平降低,大脑氧化应激水平增加;戒断后,交替强制给药和自我给药的动物 NAc 中观察到谷氨酸水平升高,氧化应激的发生减少^[31,68]。可卡因可诱导谷氨酸传递,引起 Xc⁻ 下调,导致 mGluR2/3 的谷氨酸渗透压降低,促进大鼠寻求可卡因。在 mGluR2 基因敲除小鼠中的研究表明, mGlu2 受体在抑制可卡因成瘾后的奖赏作用以及可卡因成瘾后调节谷氨酸方面发挥重要作用^[60]。在乙醇及吗啡成瘾大鼠实验中,给予乙醇及吗啡可增加 NAc 中的细胞外谷氨酸水平,同时

海马中提示氧化应激的指标 GSSG/GSH 比值也升高, 将 mGluR2/3 激动剂直接注入 NAc 或口服 NAC 则逆转了这种现象^[74-75](图 2)。

3 展望与讨论

物质成瘾机制极其复杂, 氧化应激通路在其中发挥了重要作用。尽管本文概述了氧化应激与物质成瘾的交叉作用及分子机制, 但二者之间的因果关系和联系错综复杂, 目前尚未完全明确。现阶段主要存在以下瓶颈。首先, 干扰因素: 在氧化应激研究中, 关于氧化剂和抗氧化剂在物质成瘾中的效用的大多数证据都来自于体外研究, 而体内研究的复杂性增加, 受到许多因素的影响, 包括作用部位、其他抗氧化剂和(或)氧化还原金属的存在以及氧分压等; 体内氧化物与抗氧化剂在体内出现的时序和产生作用的阶段及功能各不相同, 当它们的水平发生显著变化时, 破坏效应、保护作用及信号转导中的变化哪一项更优先、强效, 是否有相互叠加或抑制等。其次, 研究方法: 目前的研究方法主要为经典的行为学、生化、药理等, 具有一定的局限性, 尚不能完全揭示其内在逻辑关系。未来可尝试引进新型技术手段, 如化学遗传、miRNA 基因检测技术、生物信息学分析等。再次, 治疗方法: 自几十年前引入抗氧化疗法的想法以来, 在抗氧化剂治疗的临床实践中所遇到的挑战比最初设想要大得多。许多人致力于研究不同抗氧化剂对物质成瘾的疗效, 但这一漫长过程所产生的结果并不令人满意, 未来需进一步探究。尽管如此, 随着研究的深入, 对机体氧化应激的干预仍可能为临床上物质成瘾等中枢神经系统疾病的有效预防和治疗提供思路和方向。

[参 考 文 献]

- [1] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, fifth edition (DSM V)[M]. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, 2013
- [2] Zhao Y, Zhang J, Yang H, et al. Memory retrieval in addiction: a role for miR-105-mediated regulation of D1 receptors in mPFC neurons projecting to the basolateral amygdala. *BMC Bio*, 2017, 15: 128
- [3] Volkow ND, Morales M. The brain on drugs: from reward to addiction. *Cell*, 2015, 162: 712-25
- [4] Bari A, DiCesare J, Babayan D, et al. Neuromodulation for substance addiction in human subjects: a review. *Neurosci Biobehav Rev*, 2018, 95: 33-43
- [5] FDA. Information about medication-assisted treatment (Mat) [EB/OL]. (2019-02-04). <https://www.fda.gov/drugs/information-drug-class/information-about-medication-assisted-treatment-mat>
- [6] Siefried KJ, Acheson LS, Lintzeris N, et al. Pharmacological treatment of methamphetamine/amphetamine dependence: a systematic review. *CNS Drugs*, 2020, 34: 1-29
- [7] UN. World Drug Report 2021 [R/OL]. <https://www.unodc.org/unodc/data-and-analysis/wdr2021.html>
- [8] FDA. National Institute on Drug Abuse [EB/OL].(2022-11-08). <https://www.fda.gov/drugs/information-drug-class/information-about-medication-assisted-treatment-mat#>
- [9] Cobley JN, Fiorello ML, Bailey DM. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biol*, 2018, 15: 490-503
- [10] Paithankar JG, Saini S, Dwivedi S, et al Heavy metal associated health hazards: an interplay of oxidative stress and signal transduction. *Chemosphere*, 2021, 262: 128350
- [11] Yang J, Fernandez-Galilea M, Martinez-Fernandez L, et al. Oxidative stress and non-alcoholic fatty liver disease: effects of omega-3 fatty acid supplementation. *Nutrients*, 2019, 11: 872
- [12] Famitafreshi H, Karimian M. Socialization alleviates burden of oxidative-stress in hippocampus and prefrontal cortex in morphine addiction period in male rats. *Curr Mol Pharmacol*, 2018, 11: 254-9
- [13] Bechard AR, Knackstedt LA. Glutamatergic neuroplasticity in addiction [M]//Torregrossa M. Neural mechanisms of addiction. Academic Press, 2019, 3: 61-74
- [14] Bhatt S, Nagappa AN, Patil CR. Role of oxidative stress in depression. *Drug Discov Today*, 2020, 25: 1270-6
- [15] Muraro C, Dalla Tiezza M, Pavan C, et al. Major depressive disorder and oxidative stress: *in silico* investigation of fluoxetine activity against ROS. *Appl Sci*, 2019, 9: 3631
- [16] Rodrigues RF, Martins CC, Rosa SG, et al. CF3-substituted diselenide modulatory effects on oxidative stress, induced by single and repeated morphine administrations, in susceptible tissues of mice. *Can J Physiol Pharmacol*, 2021, 99: 761-7
- [17] Cai Y, Yang L, Hu G, et al. Regulation of morphine-induced synaptic alterations: Role of oxidative stress, ER stress, and autophagy. *J Cell Biol*, 2016, 215: 245-58
- [18] Pajohanfar NS, Mohebbi E, Rad A, et al. Protective effects of atorvastatin against morphine-induced tolerance and dependence in mice. *Brain Res*, 2017, 1657: 333-9
- [19] Israel Y, Quintanilla ME, Ezquer F, et al. Aspirin and N-acetylcysteine co-administration markedly inhibit chronic ethanol intake and block relapse binge drinking: Role of neuroinflammation-oxidative stress self-perpetuation. *Addict Biol*, 2021, 26: e12853
- [20] Jang EY, Yang CH, Hedges DM, et al. The role of reactive oxygen species in methamphetamine self-administration and dopamine release in the nucleus accumbens. *Addict Biol*, 2017, 22: 1304-15
- [21] Wen D, Zhao P, Hui R, et al. Hydrogen-rich saline attenuates anxiety-like behaviors in morphine-withdrawn mice. *Neuropharmacology*, 2017, 118: 199-208
- [22] Das SC, Althobaiti YS, Alshehri FS, et al. Binge ethanol

- withdrawal: effects on post-withdrawal ethanol intake, glutamate-glutamine cycle and monoamine tissue content in P rat model. *Behav Brain Res*, 2016, 303: 120-5
- [23] Jayanthi S, Daiwile AP, Cadet JL. Neurotoxicity of methamphetamine: main effects and mechanisms. *Exp Neurol*, 2021, 344: 113795
- [24] Mecocci P, Boccardi V, Cecchetti R, et al. A long journey into aging, brain aging, and Alzheimer's disease following the oxidative stress tracks. *J Alzheimers Dis*, 2018, 62: 1319-35
- [25] Li X, Zhu J, Lin Q, et al. Effects of curcumin on mitochondrial function, endoplasmic reticulum stress, and mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes in the jejunum of oxidative stress piglets. *J Agric Food Chem*, 2022, 70: 8974-85
- [26] Bazylianska V, Sharma A, Chauhan H, et al. Dopamine and methamphetamine differentially affect electron transport chain complexes and parkin in rat striatum: new insight into methamphetamine neurotoxicity. *Int J Mol Sci*, 2021, 23: 363
- [27] Nissanka N, Moraes CT. Mitochondrial DNA damage and reactive oxygen species in neurodegenerative disease. *FEBS Lett*, 2018, 592: 728-42
- [28] Zegers-Delgado J, Blanlot C, Calderon F, et al. Reactive oxygen species modulate locomotor activity and dopamine extracellular levels induced by amphetamine in rats. *Behav Brain Res*, 2022, 427: 113857
- [29] Younes-Rapoza V, Moura EG, Manhães AC, et al. Neonatal nicotine exposure leads to hypothalamic gliosis in adult overweight rats. *J Neuroendocrinol*, 2015, 27: 887-98
- [30] Guo ML, Liao K, Periyasamy P, et al. Cocaine-mediated microglial activation involves the ER stress-autophagy axis. *Autophagy*, 2015, 11: 995-1009
- [31] Quintanilla ME, Ezquer F, Morales P, et al. N-acetylcysteine and acetylsalicylic acid inhibit alcohol consumption by different mechanisms: combined protection. *Front Behav Neurosci*, 2020, 14: 122
- [32] Mondal S, Das S, Mahapatra PK. Morin encapsulated chitosan nanoparticles(MCNPs) ameliorate arsenic induced liver damage through improvement of the antioxidant system and prevention of apoptosis and inflammation in mice. *Nanoscale Adv*, 2022, 4: 2857-72
- [33] Wu R, Li JX. Toll-like receptor 4 signaling and drug addiction. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 603445
- [34] Tomko RL, Jones JL, Gilmore AK, et al. N-acetylcysteine: a potential treatment for substance use disorders. *Curr Psychiatr*, 2018, 17: 30-55
- [35] Quintanilla ME, Ezquer F, Morales P, et al. Intranasal mesenchymal stem cell secretome administration markedly inhibits alcohol and nicotine self-administration and blocks relapse-intake: mechanism and translational options. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10: 205
- [36] Chandran R, Kim T, Mehta SL, et al. A combination antioxidant therapy to inhibit NOX2 and activate Nrf2 decreases secondary brain damage and improves functional recovery after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38: 1818-27
- [37] Tu W, Wang H, Li S, et al. The anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Dis*, 2019, 10: 637-51
- [38] Tian R, Geng Y, Yang Y, et al. Oxidative stress drives divergent evolution of the glutathione peroxidase (GPX) gene family in mammals. *Integr Zool*, 2021, 5: 696-711
- [39] Huang R, Hu W, Yin Y, et al. Chronic restraint stress promotes learning and memory impairment due to enhanced neuronal endoplasmic reticulum stress in the frontal cortex and hippocampus in male mice. *Int J Mol Med*, 2015, 35: 553-9
- [40] Perez-Torres I, Castrejon-Tellez V, Soto ME, et al. Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 1786
- [41] Yoo GY, Kim E, Kang H, et al. Mass spectrometric investigation of concentration-dependent effect of curcumin and oxidative stress on intracellular glutathione levels. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412: 2873-80
- [42] Motaghinejad M, Karimian M, Motaghinejad O, et al. Protective effects of various dosage of Curcumin against morphine induced apoptosis and oxidative stress in rat isolated hippocampus. *Pharmacol Rep*, 2015, 67: 230-5
- [43] Monteiro HP, Ogata FT, Stern A. Thioredoxin promotes survival signaling events under nitrosative/oxidative stress associated with cancer development. *Biomed J*, 2017, 40: 189-99
- [44] Li X, Huang M, Yang L, et al. Overexpression of thioredoxin-1 blocks morphine-induced conditioned place preference through regulating the interaction of γ -aminobutyric acid and dopamine systems. *Front Neurol*, 2018, 9: 309
- [45] Fan Y, Chen Y, Zhang S, et al. Morphine reverses the effects of 1-methyl-4-phenylpyridinium in PC12 cells through activating PI3K/Akt. *Int J Neurosci*, 2019, 1: 30-5
- [46] Guo N, Zhang X, Huang M, et al. Geranylgeranylacetone blocks the reinstatement of morphine-conditioned place preference. *Neuropharmacology*, 2018, 143: 63-70
- [47] Garcia-Carmona JA, Camejo DM, Almela P, et al. CP-154,526 modifies CREB phosphorylation and thioredoxin-1 expression in the dentate gyrus following morphine-induced conditioned place preference. *PLoS One*, 2015, 10: e0136164
- [48] Luo F, Feng Y, Zhao L, et al. Thioredoxin-1 expression regulated by morphine in SH-SY5Y cells. *Neurosci Lett*, 2012, 523: 50-5
- [49] Yang GM, Li L, Xue FL, et al. The potential role of PKA/CREB signaling pathway concerned with gastrodin administration on methamphetamine-induced conditioned place preference rats and SH-SY5Y cell line. *Neurotox Res*, 2020, 37: 926-35
- [50] Yang G, Li J, Peng Y, et al. Ginsenoside Rb1 attenuates methamphetamine (METH)-induced neurotoxicity through the NR2B/ERK/CREB/BDNF signalings *in vitro* and *in vivo* models. *J Ginseng Res*, 2022, 46: 426-34
- [51] Ma CL, Li L, Yang GM, et al. Neuroprotective effect of gastrodin in methamphetamine-induced apoptosis through

- regulating cAMP/PKA/CREB pathway in cortical neuron. *Hum Exp Toxicol*, 2020, 39: 1118-29
- [52] Mehrafza S, Kermanshahi S, Mostafidi S, et al. Pharmacological evidence for lithium-induced neuroprotection against methamphetamine-induced neurodegeneration via Akt-1/GSK3 and CREB-BDNF signaling pathways. *Iran J Basic Med Sci*, 2019, 22: 856-65
- [53] Lv T, Wang SD, Bai J. Thioredoxin-1 was required for CREB activity by methamphetamine in rat pheochromocytoma cells. *Cell Mol Neurobiol*, 2013, 33: 319-25
- [54] Zeng X, Geng W, Wang Z, et al. Morphine addiction and oxidative stress: the potential effects of thioredoxin-1. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 82
- [55] Liu X, Hussain R, Mehmood K, et al. Mitochondrial-endoplasmic reticulum communication-mediated oxidative stress and autophagy. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 6459585
- [56] Krych-Madej J, Gebicka L. Interactions of nitrite with catalase: enzyme activity and reaction kinetics studies. *J Inorg Biochem*, 2017, 171: 10-7
- [57] Saify K, Saadat I, Saadat M. Down-regulation of antioxidant genes in human SH-SY5Y cells after treatment with morphine. *Life Sci*, 2016, 144: 26-9
- [58] Motaghinejad M, Karimian SM, Motaghinejad O, et al. The effect of various morphine weaning regimens on the sequelae of opioid tolerance involving physical dependency, anxiety and hippocampus cell neurodegeneration in rats. *Fundam Clin Pharmacol*, 2015, 29: 299-309
- [59] Kalivas PW. The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10: 561-72
- [60] Niedzielska-Andres E, Pomierny-Chamiolo L, Andres M, et al. Cocaine use disorder: a look at metabotropic glutamate receptors and glutamate transporters. *Pharmacol Ther*, 2021, 221: 107797
- [61] Ghasemtarei M, Yusupov M, Razzokov J, et al. Effect of oxidative stress on cystine transportation by xC⁻ antiporter. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 674: 108114
- [62] Saeedi N, Darvishmolla M, Tavassoli Z, et al. The role of hippocampal glial glutamate transporter (GLT-1) in morphine-induced behavioral responses. *Brain Behav*, 2021, 11: e2323
- [63] Althobaiti YS, Alshehri FS, Hakami AY, et al. Effects of clavulanic acid treatment on reinstatement to methamphetamine, glial glutamate transporters, and mGluR 2/3 expression in P rats exposed to ethanol. *J Mol Neurosci*, 2019, 67: 1-15
- [64] Alhaddad H, Alasmari F, Alhamadani B, et al. Effects of chronic ethanol consumption on the expression of GLT-1 and neuroplasticity-related proteins in the nucleus accumbens of alcohol-preferring rats. *Brain Res Bull*, 2020, 165: 272-80
- [65] Parker JL, Deme JC, Kolokouris D, et al. Molecular basis for redox control by the human cystine/glutamate antiporter system xC⁻. *Nat Commun*, 2021, 12: 7147
- [66] Neves JD, Vizueté AF, Nicola F, et al. Glial glutamate transporters expression, glutamate uptake, and oxidative stress in an experimental rat model of intracerebral hemorrhage. *Neurochem Int*, 2018, 116: 13-21
- [67] Reissner KJ, Gipson CD, Tran PK, et al. Glutamate transporter GLT-1 mediates N-acetylcysteine inhibition of cocaine reinstatement. *Addict Biol*, 2015, 20: 316-23
- [68] Amaral V, Morais-Silva G, Laverde CF, et al. Susceptibility to extinction and reinstatement of ethanol-induced conditioned place preference is related to differences in astrocyte cystine-glutamate antiporter content. *Neurosci Res*, 2021, 170: 245-54
- [69] Lebourgeois S, Gonzalez-Marin MC, Jeanblanc J, et al. Effect of N-acetylcysteine on motivation, seeking and relapse to ethanol self-administration. *Addict Biol*, 2018, 23: 643-52
- [70] Quintanilla ME, Morales P, Ezquer F, et al. Commonality of ethanol and nicotine reinforcement and relapse in wistar-derived UChB rats: inhibition by N-acetylcysteine. *Alcohol Clin Exp Res*, 2018, 42: 1988-99
- [71] Sepulveda-Orengo MT, Healey KL, Kim R, et al. Riluzole impairs cocaine reinstatement and restores adaptations in intrinsic excitability and GLT-1 expression. *Neuropsychopharmacology*, 2018, 43: 1212-23
- [72] Baharlouei N, Sarihi A, Komaki A, et al. Blockage of acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in rats due to activation of glutamate receptors type II/III in nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, 135: 192-8
- [73] Qian Z, Wu X, Qiao Y, et al. Downregulation of mGluR2/3 receptors during morphine withdrawal in rats impairs mGluR2/3- and NMDA receptor-dependent long-term depression in the nucleus accumbens. *Neurosci Lett*, 2019, 690: 76-82
- [74] Madayag A, Lobner D, Kau KS, et al. Repeated N-acetylcysteine administration alters plasticity-dependent effects of cocaine. *J Neurosci*, 2007, 27: 13968-76
- [75] Baharlouei N, Sarihi A, Moradi M, et al. Microinjection of the mGluR2/3 agonist, LY379268, into the nucleus accumbens attenuates extinction latencies and the reinstatement of morphine-induced conditioned place preference in rats. *Behav Pharmacol*, 2018, 29: 385-92