

过氧亚硝酸阴离子与心血管疾病

王宇朋 王 萍 李虹伟

氧化应激及在氧化应激过程中产生的活性氧簇(ROS)与心血管疾病的发生发展有密切关系。过氧亚硝酸阴离子(ONOO^-)作为一种重要的氧化应激产物及活性氧簇的一员,在其中发挥着重要的作用。本文对 ONOO^- 与心血管疾病的关系做一综述,以期对下一步研究有所裨益。

一、 ONOO^- 的理化特性

ONOO^- 是一氧化氮(NO)和超氧阴离子(O_2^-)的快速非酶促化学反应产物,具有明显的氧化作用^[1]。在氧化应激的状态下, ONOO^- 的生成显著增加。以往认为很多与 NO 有关的病理生理效应,实际是由 ONOO^- 介导的^[2]。

ONOO^- 可以直接与多种蛋白质中的巯基发生反应,从而产生硝基酪氨酸^[3]。由于体内及离体活组织中 ONOO^- 浓度低、反应性强、寿命短,目前还没有令人完全满意的测定方法。目前认为蛋白质中 3-硝基酪氨酸的存在是组织受到 ONOO^- 损伤的特异性证据^[4]。 ONOO^- 也可与 CO_2 发生反应,最终生成 NO_2 和 CO_3^- 。 ONOO^- 也可通过多种氧化途径生成 $\cdot\text{OH}$ 及 CO_3^- 。 CO_3^- 在体内发挥类似于但强于 OH 的氧化修饰作用,这一间接作用在 ONOO^- 的氧化作用中可能居于主导地位^[2]。

二、 ONOO^- 在心血管疾病中的研究进展

1. 动脉粥样硬化与再狭窄: ONOO^- 氧化 LDL 转化为 ox-LDL,促进泡沫细胞形成、单核细胞在内皮的黏附与聚集及平滑肌细胞的增生,抑制巨噬细胞的移动,最终促进动脉粥样硬化的产生与进展^[5]。研究提示动脉粥样硬化患者易损斑块中 3-硝基酪氨酸及 iNOS 表达增加^[6]。 ONOO^- 在内源性抗氧化系统存在的情况下,也可调节局部的 LDL 和 HDL,进而调节内皮细胞和平滑肌细胞的细胞信号传导,影响血管对致动脉粥样硬化刺激的反应^[7]。研究也发现,在血脂代谢异常的患者中, ONOO^- 明显增加^[6]。动

物实验提示,采用抗氧化剂及禁食等改善血管内皮功能、抑制粥样硬化进展的措施后,血浆及血管局部酪氨酸硝化水平平均明显下降^[8]。

研究提示,在冠状动脉内球囊扩张所致的内膜及中膜损伤和支架置入术的模型中,3-硝基酪氨酸的表达明显增加。这暗示血浆 3-硝基酪氨酸/酪氨酸可能是血管管腔晚期丢失(late lumen loss)的独立预测因子^[9]。因此, ONOO^- 在冠状动脉介入治疗后的血管重构中发挥着重要的作用。

2. 冠心病:缺血再灌注损伤是急性冠脉综合征中导致心肌损伤的重要原因。目前,临床所有的再灌注治疗都无法完全避免再灌注损伤。Wang 等发现在再灌注的最初 2min 内,大鼠心脏的 ONOO^- 生成明显增加,而加用 NOS 抑制剂 L-NAME、SOD 及尿酸盐(urate, ONOO^- 清除剂)后,受损的心脏收缩功能有所恢复^[5]。后续研究发现,与对照组相比,给予 ONOO^- 灌注或预先予缺血再灌注损伤的大鼠心脏的酪氨酸硝化水平明显增加^[10]。研究也证实, ONOO^- 增加再灌注心律失常发生的机会^[2]。研究发现,在予低氧/再充氧刺激所诱发的牛冠状动脉痉挛中, ONOO^- 导致的前列腺素合成酶中酪氨酸的硝化发挥着重要的作用^[11]。在心脏停搏复苏后的患者中,心肌活检的结果证实,硝基酪氨酸水平明显增加,这提示 ONOO^- 参与了再灌注损伤的病理过程。即使在顿抑心肌中,硝基酪氨酸的水平也较正常心肌增高^[12]。研究发现,在大鼠或猪的缺血再灌注模型中,给予 ONOO^- 分解的催化剂后,蛋白质硝化水平下降、心肌坏死的范围缩小,心脏功能较前改善^[13]。

缺血预适应和后处理都被认为是机体对抗再灌注损伤的保护机制。二者皆可减轻心肌细胞内钙超负荷,抑制氧自由基生成。研究发现,缺血预适应和后处理均可降低 ONOO^- 和硝化酪氨酸水平,抑制细胞坏死诱导酶类 PARP 的激活,减轻再灌注损伤^[14]。

有趣的是,在行冠状动脉介入治疗或溶栓治疗的心肌梗死患者中,尿酸盐水平是升高的。而尿酸盐却是 ONOO^- 对蛋白质硝化作用的天然抑制剂^[15]。这

可能是由于机体在受到低氧刺激后,为对抗 ONOO^- 的损伤所做出的一种自身防御机制。此外, ONOO^- 在硝酸酯类耐药中也起着重要的作用。 ONOO^- 可对 $\text{NO} - \text{sGC} - \text{cGMP} - \text{cGMP}$ 依赖的蛋白激酶途径的关键酶及 PDE (cGMP 分解代谢酶) 进行氧化修饰,抑制 sGC 的活性,降低硝酸酯类所介导的血管舒张,这可能是硝酸酯类产生耐药的机制之一^[16]。此外, ONOO^- 也可破坏冠状动脉内皮细胞的离子通道,影响 Ca^{2+} 、 K^+ 电流,阻断硝酸酯类对于血管的舒张作用^[17]。

3. 高血压:研究证实,在 SHR 大鼠等高血压模型动物的血浆、血管及肾组织中, ONOO^- 及蛋白质硝化水平明显增加^[18]。对大鼠内皮细胞及主动脉的离体及体内研究均证实,血管紧张素 II 促进 ONOO^- 生成,升高蛋白质硝化水平。而应用雷米普利、卡维地洛及 eNOS 辅因子四氢生物嘌呤后,蛋白质硝化水平明显降低,血管功能改善,血压下降^[19]。

4. 心力衰竭:动物实验证实,心力衰竭时,iNOS 表达增加,蛋白质硝化水平上升^[20]。而且,心脏功能下降的程度与 iNOS 及硝化水平升高的程度呈正相关。对于心房颤动患者左心耳的组织活检也发现,蛋白质硝化水平明显增高^[21]。研究也发现,促进 ONOO^- 分解的药物可改善心肌病动物模型的心功能,同时蛋白质硝化水平明显降低^[22]。目前认为, ONOO^- 可能通过激活下游的 PARP、MMP 来发挥作用,而能够有效抑制 ONOO^- 的药物具有改善心脏功能的作用。

5. 心肌炎:研究显示,在小鼠心肌炎模型中,蛋白质硝化水平上升。对于病毒性心肌炎患者的心肌活检也证实,蛋白质硝化水平上升。提示 ONOO^- 参与其中。在自身免疫所诱发的心肌炎动物模型中,iNOS 表达增加,蛋白质硝化水平上升。而应用 ONOO^- 清除剂后,蛋白质硝化水平下降,同时心脏功能改善。

6. 糖尿病:糖尿病患者的心血管并发症是临床面临的重要问题。研究证实,糖尿病患者血浆及血小板的蛋白质硝化水平明显增加,而硝化酪氨酸可直接损伤内皮细胞。高血糖可抑制前列腺素合成酶的活性,促进黏附因子在大动脉内皮细胞的表达,使 ONOO^- 生成增加,激活细胞凋亡等病理过程。对于用高糖孵育及取自糖尿病患者活检心肌的心肌细胞、内皮细胞、平滑肌细胞,应用 ONOO^- 清除剂可降低高血糖导致的蛋白质硝化水平,而蛋白质硝化水平与细胞功能受损的水平及凋亡程度呈正相关。目前认为,

ONOO^- 主要通过蛋白质硝化 - DNA 断裂 - PARP 激活的途径导致糖尿病的心血管并发症的发生发展。研究证实,PARP - 1 的激活在糖尿病心血管并发症的发生发展中具有至关重要的作用。

三、展 望

综上所述, ONOO^- 在多种心血管疾病及糖尿病血管病变中发挥着极其重要的作用。目前的研究证实,在心血管疾病及糖尿病血管病变中, ONOO^- 主要通过其硝化作用证明其存在,同时发挥作用。随着经济的发展,人民生活方式的转变,人群预期寿命的不断增加,高龄患者、合并多种血管合并症的患者及糖尿病患者都在迅速增加。对多种合并症的高龄患者,在极其复杂的内环境中 ONOO^- 主要通过何种细胞信号途径,如何发挥其病理生理作用,有无不同于前述单一疾病时的病理生理作用机制仍需进一步深入研究。

参考文献

- Huie RE, Padmaja S. The reaction rate of nitric oxide with superoxide. *Free Radical Research Communications*, 1993, 18(4): 195 - 199
- Pacher P, Joseph S. Beckman, *et al.* Nitric Oxide and peroxynitrite in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 2007, 87(1): 315 - 424
- Radi R, Beckman JS, Bush KM, *et al.* Peroxynitrite mediated sulfhydryl oxidation; the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *The Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266(7): 4244 - 4250
- 马邵,叶青. 蛋白质酪氨酸硝基化与糖尿病关系的研究进展. *山东医药*, 2009, 49(7): 115 - 117
- Wang P, Zweier JL. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart. Evidence for peroxynitrite - mediated reperfusion injury. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(46): 29223 - 29230
- Becker JS, Adler A, Schmeberger A, *et al.* Hyperhomocysteinemia, a cardiac metabolic disease; role of nitric oxide and the p22phox subunit of NADPH oxidase. *Circulation*, 2005, 26;111(16): 2112 - 2118
- Guy RA, Maguire GF, Crandall I, *et al.* Characterization of peroxynitrite - oxidized low density lipoprotein binding to human CD36. *Atherosclerosis*, 2001, 155(1): 19 - 28
- Yang H, Shi M, Story J, *et al.* Food restriction attenuates age - related increase in the sensitivity of endothelial cells to oxidized lipids. *The J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2004, 59(4): B316 - B323
- Inoue T, Kato T, Hikichi Y, *et al.* Stent - induced neutrophil activation is associated with an oxidative burst in the inflammatory process, leading to neointimal thickening. *Thromb Haemost*, 2006, 95(1): 43 - 48
- Fan Q, Yang XC, Cao XB. Glutathione reverses peroxynitrite - mediated deleterious effects of nitroglycerin on ischemic rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006, 47(3): 405 - 412
- Zou M, Yesilkaya A, Ullrich V. Peroxynitrite inactivates prostacyclin synthase by heme - thiolate - catalyzed tyrosine nitration. *Drug Metab Rev*, 1999, 31(2): 343 - 349

(下转至第 62 页)

表 2 出生缺陷与气象因素线性相关分析

气象因素	相关系数	P
气压	-0.235	0.292
气温	0.113	0.617
气湿	-0.505	0.016
风速	0.798	0.000
日照	-0.161	0.474
API	0.697	0.000

4. 出生缺陷与风速、API 关系:1996 ~ 2006 年出生缺陷的发生率与风速和 API 的变化趋势一直随着风速和 API 的增高而增高(图 2)。

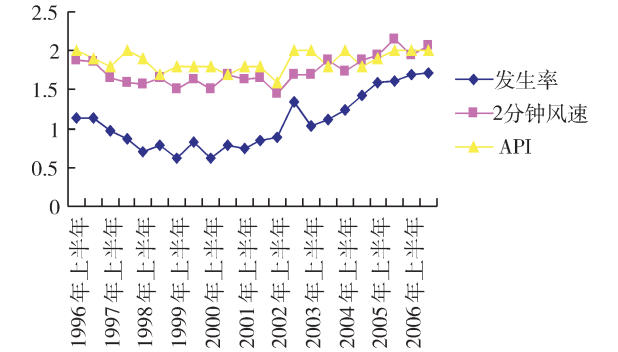


图 2 1996 ~ 2006 年福建省出生缺陷发生率与风速、API 基本情况
讨 论

在目前公认的各种大气污染物中,大气颗粒物,尤其细颗粒物(PM2.5),被认为是对人体健康危害最强且代表性最大的大气污染物^[6]。据 Rogers J. Felix 等的研究,当母亲暴露于受到交通污染的空气中,其生出极低体重婴儿(≤1500g)的风险增加^[7]。API 为

评价大气环境质量的综合指标,适合于表示城市的短期空气质量状况和变化趋势^[8]。本研究采用线性回归的分析方法将人群和气象及污染物 API 结合起来分析,风速、湿度、API 与出生缺陷的发生率有关,其中风速对出生缺陷发生的贡献率最大。进一步采用线性相关分析发现风速与 API 存在相关性,考虑为 API 为可吸入颗粒物,在空气中呈悬浮状,风速可影响 API 的浓度,从而风速可间接影响出生缺陷的发生。

参考文献

1 张科利,何艳微,郑晓瑛,等. 中国出生缺陷高发区出生缺陷发生率与土壤微量元素关系的分析[J]. 中国流行病学杂志,2008,12(29):1273-1275

2 李新虎,王劲峰,郑晓瑛,等. 出生缺陷发生的环境因素研究进展[J]. 中国公共卫生,2005,10(21):1158-1160

3 Beate Ritz, Michelle Wilhelm, Jo Kay C. Ghosh, et al. Ambient Air Pollution and Preterm Birth in the Environment and Pregnancy Outcomes Study at the University of California, Los Angeles. Am J Epidemiol,2007,166:1045-1052

4 李军,孙春宝,刘咸德,等. 气象因素对北京市大气颗粒物浓度影响的非参数分析[J]. 环境科学研究,2009,6(22):663-669

5 张衍桑,周脉耕,贾子平,等. 天津市大气气态污染物与居民每日死亡关系的时间序列分析[J]. 中华流行病学杂志,2010,10(31):1158-1162

6 杨敏娟,潘小川. 北京市大气污染与居民心脑血管疾病死亡的时间序列分析[J]. 环境与健康杂志,2008,4(25):294-297

7 J. Felix Rogers and Anne L. Dunlop. Air Pollution and Very Low Birth Weight Infants: A Target Population Pediatrics,2006,118:156-164

8 郑美秀,周学鸣,等. 厦门空气污染指数与地面气象要素的关系分析[J]. 气象与环境学报,2010,4(26):53-57

(收稿:2010-11-29)

(修回:2011-05-30)

(上接第 13 页)

12 罗义,刘伊丽,陈媛,等. 过氧亚硝酸阴离子在心肌顿抑中发生的作用. 中华内科杂志,2003,42(11):809-810

13 Levrand S, Vannay - Bouchiche C, Pesse B, et al. Peroxynitrite is a major trigger of cardiomyocyte apoptosis in vitro and in vivo. Free Radic Biol Med,2006,41(6):886-895

14 Xu Y, Armstrong SJ, Arenas IA, et al. Cardioprotection by chronic estrogen or superoxide dismutase mimetic treatment in the aged female rat. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2004,287(1):H165-H171

15 Yardim - Akaydin S, Kesimer M, Imren E, et al. Urate oxidation during percutaneous transluminal coronary angioplasty and thrombolysis in patients with coronary artery disease. Clin Chim Acta,2005,362(1-2):131-137

16 Weber M, Lauer N, Mulsch A, et al. The effect of peroxynitrite on the catalytic activity of soluble guanylyl cyclase. Free Radic Biol Med,2001,31(11):1360-1367

17 Liu Y, Gutterman DD. Oxidative stress and potassium channel func-

tion. Clin Exp Pharmacol Physiol,2002,29(4):305-311

18 Kagota S, Yamaguchi Y, Tanaka N, et al. Disturbances in nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate system in SHR/NDmcr - cp rats, a model of metabolic syndrome. Life Sci,2006,78(11):1187-1196

19 Vaziri ND, Ni Z, Oveisi F, et al. Enhanced nitricoxide inactivation and protein nitration by reactive oxygen species in renal insufficiency. Hypertension,2002,39(1):135-141

20 Mihm MJ, Coyle CM, Schanbacher BL, et al. Peroxynitrite induced nitration and inactivation of myofibrillar creatine kinase in experimental heart failure. Cardiovasc Res,2001,49(4):798-807

21 Mihm MJ, Yu F, Carnes CA, et al. Impaired myofibrillar energetics and oxidative injury during human atrial fibrillation. Circulation,2001,104(2):174-180

22 Deb A, Szabo E, Ungvari Z, et al. Potent metalloporphyrin peroxynitrite decomposition catalyst protects against the development of doxorubicin - induced cardiac dysfunction. Circulation,2003,107(6):896-904

(收稿:2010-11-03)