

过氧亚硝酸盐对脓毒症心肌的影响

马 光 卢中秋

摘 要 一氧化氮(NO)和超氧化物可以快速反应生成过氧亚硝酸盐。脓毒症是以全身炎症反应和急性器官功能不全为特征的综合征,是临床危重症的主要死亡原因。脓毒症所致的心血管功能不全是决定脓毒症预后的主要因素之一,其发生的机制还未完全阐明,涉及多方面的原因。NO、氧自由基、过氧亚硝酸盐能引起脓毒症的心功能不全。针对于过氧亚硝酸盐的治疗可能为脓毒症的心功能不全的治疗提供了一种有效手段。

关键词 脓毒症 心功能不全 NO 过氧亚硝酸盐

[中图分类号] R459.7 **[文献标识码]** A

脓毒症的特点是全身的炎症反应、组织低灌注和渐进性器官功能不全。渐进的血流动力学和心血管的不稳定是脓毒症的基本表现,也是脓毒症休克发生和高病死率的重要因素。脓毒症心功能不全主要表现为心肌收缩能力和左心室射血分数下降,还可表现为心脏舒张功能不全。脓毒症的心功能不全的机制十分复杂,NO和超氧化物可以快速反应生成过氧亚硝酸盐,本文对过氧亚硝酸盐对脓毒症心肌的影响进行阐述。

一、一氧化氮

一氧化氮(NO)是可由包括心肌在内的细胞产生的半衰期为几秒钟的物质。在心肌细胞中存在3种亚型的NO合酶。NO在心脏有多层面的作用。NO可以直接作用于血管、抑制线粒体的呼吸、促进炎症介质的释放。NO在一定程度上据浓度和细胞环境不同具有促进和抑制细胞凋亡的能力^[1]。例如在健康志愿者中低浓度NO可以改善左心室的功能,而用NOS抑制剂降低NO浓度使心脏射血分数减低^[2]。另一方面,在实验离体心肌细胞中高浓度NO使心肌细胞因能量生成较少而造成收缩功能障碍。

NO对心脏的作用就像一把“双刃剑”。NO可以维持心室在舒张期的血液充盈,进而维持心肌的血液灌注。可诱导的NOS-2可以通过合成NO来抑制心肌细胞的功能。而高浓度NO也可以诱导心肌的凋

亡和心脏功能不全。NO还能增加线粒体对钙离子的摄取,使线粒体内钙超载而胞质中的钙离子浓度降低。NO可以结合并抑制呼吸链的复合体IV,产生大量的活性氧。高浓度的NO可以抑制呼吸链并诱导心肌细胞凋亡。

二、氧自由基

内毒素可以介导心肌细胞通过黄嘌呤氧化酶、NADH/NADPH氧化酶和线粒体途径产生氧自由基。氧自由基的生成可能与脓毒症心肌收缩功能下降和耗氧量减少有关。单核细胞和心肌细胞中超氧化物主要来自NADH或NADPH氧化酶。内毒素使单核细胞和心肌细胞中可诱导的电子传递系统中从NADH或NADPH到氧气的传递减少,有利于氧自由基的生成^[3]。促蛋白激酶(MAPK)对活性氧很敏感:在内毒素活化的巨噬细胞NADPH氧化酶在MAPK活化中起着重要作用。MAPK有3个家族的蛋白激酶:细胞外信号调节蛋白激酶、p38蛋白激酶和c-Jun NH2末端激酶(JNK1/2/3)。MAPK途径的活化和包括循环衰竭在内的病理条件下的基因表达有关。

在脓毒症和内毒素血症中,线粒体中复合体I、III的电子流动受抑制而产生氧自由基^[4]。正常情况下,线粒体耗氧的2%~6%转化为活性氧自由基,目前认为线粒体复合体I和复合体III是超氧自由基产生的主要部位。而在缺血和受损状态下,作为最终电子受体的氧分子供给显著减少,电子的供应障碍,导致线粒体电子漏出增加,超氧自由基生成增多的恶性循环。

三、过氧亚硝酸盐

NO和超氧化物可以快速反应生成过氧亚硝酸盐。NO是相对稳定并可以远处扩散的自由基,超氧

基金项目:浙江省“十二五”重点学科建设计划基金资助项目;浙江省医学创新学科项目(11-CX26);浙江省中医药重点学科项目(2012-XK-A28)

作者单位:325000 温州医科大学附属第一医院急诊科

通讯作者:卢中秋,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:

lzq640815@163.com

化物存在时间短并且很难穿过生物膜。因此过氧硝酸盐形成的部位与超氧化物生成部位是一致的,主要在细胞膜 NADH 或 NADPH 氧化酶或线粒体呼吸复合体。过氧亚硝基阴离子可与机体内的二氧化碳快速反应生成碳酸根和二氧化氮自由基,二氧化氮自由基与机体内的生物高分子反应,产生硝基化产物。过氧亚硝酸可以裂解为羟基和和二氧化氮自由基。在疏水的情况下,过氧亚硝酸裂解为羟基和和二氧化氮自由基可能与脂质过氧化有关^[5]。

过氧亚硝酸盐可以氧化巯基化合物和硫醚,硝基化和羟化包括酪氨酸、色氨酸和鸟嘌呤在内的芳香化合物。过氧亚硝酸盐可以影响细胞酶和脂质的功能,从而影响细胞的功能。超氧化物歧化酶的酪氨酸被硝基化可以降低细胞的抗氧化能力。过氧亚硝酸盐可以通过氧化巯基化合物和破坏铁硫蛋白辅基抑制线粒体和细胞质的顺乌头酸酶导致细胞的代谢调节异常,也可抑制线粒体呼吸链上的多种代谢酶导致细胞的能量代谢障碍。总之过氧亚硝酸盐可以影响心肌细胞的正常代谢。

过氧亚硝酸盐也可以介导细胞损伤的正反馈。过氧亚硝酸盐可以氧化一些酶的辅助因子。四氢生物蝶呤是 NO 合酶的必需的辅助因子,过氧硝酸盐氧化四氢生物蝶呤导致 NO 合酶不能结合四氢生物蝶呤。未结合四氢生物蝶呤 NO 合酶又能产生过氧亚硝酸盐,从而加重损伤的正反馈。NADH 和过氧硝酸盐可以生成 NAD^+ 和过氧化物,而过氧化物又可以生成 H_2O_2 。过氧硝酸盐氧化 NADH 使细胞内嘧啶核苷酸失衡,促进了细胞内氧化剂的生成^[6]。过氧亚硝酸盐可以通过细胞膜引起 DNA 的损伤。DNA 的损伤可以激活耗能的 PARP 循环,增加 NAD^+ 和 ATP 的消耗,减慢糖酵解的速率和降低线粒体的呼吸功能,导致细胞的功能障碍;PARP 途径的激活可以通过可诱导的 NO 合酶产生 NO。过氧亚硝酸盐可以通过 PARP 途径放大其对细胞的损伤,甚至引起细胞坏死^[7]。过氧亚硝酸盐可以抑制线粒体的电子转运体酶的活性,增加了线粒体过氧化物和过氧化氢的产生。过氧硝酸盐通过硝基化锰超氧化物歧化酶的酪氨酸,使线粒体清除氧自由基的能力下降,可能放大线粒体的损伤^[8]。过氧硝酸盐硝基化细胞色素 C 可以使其的氧化能力增加,从而加剧过氧化物对线粒体蛋白和细胞膜的损伤^[9]。过氧硝酸盐不仅可以促进细胞释放促凋亡因子,还可以触发细胞色素 C 依赖的细胞凋亡^[10]。

过氧亚硝酸盐还可以抑制细胞膜的钠离子/钾离子 ATP 酶。钠离子/钾离子 ATP 酶的活性受到抑制就会使心肌细胞中钠离子/钙离子的交换增加,使细胞内钙离子浓度增加,也可以促进具有心肌抑制作用的 $\text{TNF}-\alpha$ 生成增加^[11]。过氧亚硝酸盐可以通过硝基化抑制肌质网钙泵 2a 活性,减少肌质网中钙离子的再摄取,从而干扰钙离子流动来影响心肌细胞的收缩和舒张功能^[12]。

过氧亚硝酸盐可以通过氧化巯基干扰其与锌离子的结合来活化金属蛋白酶。金属蛋白酶-2 普遍存在于心肌中,其活化在心肌收缩功能不全中起着重要作用。金属蛋白酶-2 活化可以使心肌纤维中的肌钙蛋白 I 和肌球蛋白轻链-1 的快速裂解而引起心功能不全;此外,还可以使肌球蛋白轻链-1 硝基化而引起心肌收缩功能受损^[13,14]。

过氧亚硝酸盐可以影响肌纤维中蛋白的活性,其中富含酪氨酸残基的 α -辅肌动蛋白的硝基化可以使心肌的收缩功能下降^[15]。过氧亚硝酸盐还可以硝基化肌酸激酶的酪氨酸残基抑制其活性,干扰心肌纤维 ADP 和 ATP 之间的转化,从而降低心肌的收缩功能^[16]。

过氧亚硝酸盐还可以通过 PARP 裂解和 caspase-3 途径引起心肌细胞的凋亡。PARP 裂解和 PARP 途径的激活不同,PARP 的裂解使其对 DNA 的损伤失去修复能力,减少 PARP 途径的激活的能量消耗为细胞的凋亡提供所需能量。过氧亚硝酸盐引起的 PARP 裂解和 PARP 途径的激活可能是对心肌死亡的调节^[17]。此外,过氧亚硝酸盐还可以引起心肌释放 HMGB1,从而使有心肌抑制作用的炎症因子增加^[18]。

过氧亚硝酸盐可以快速氧化巯基及巯基化合物、硝基化和羟基化芳香族化合物。过氧亚硝酸盐的氧化作用可以使脂质结构改变,从而影响细胞膜的完整性和通透性^[19]。过氧亚硝酸盐可以使蛋白质变性、抑制线粒体呼吸功能、干扰钙离子流动和减弱心肌的收缩能力。

四、展 望

脓毒症中的过氧亚硝酸盐可能是造成心脏收缩功能降低的因子。在内毒素小鼠模型中,过氧亚硝酸盐中和剂和加速过氧亚硝酸盐代谢的分解剂不仅可以降低内毒素小鼠模型内过氧亚硝酸盐的积累,还可以阻止 4h 和 16h 心肌收缩功能下降^[20]。动物模型中用离体灌注心脏来评估心脏功能,而在脓毒症患者

中患者的心功能还受其他因素的影响。虽然近年来一些过氧亚硝酸盐的清除剂在脓毒症的动物模型中改善其他器官功能中也取得了一定的收益,但内毒素的动物模型简化了脓毒症的疾病过程,过氧亚硝酸盐可能在一些情况下是致病因子,而在另一种情况下可能不是致病因子,也就是说可能要根据不同疾病阶段来调整过氧亚硝酸盐的活性^[21]。如果证实过氧亚硝酸盐是疾病发展过程中干预的目标,可能为临床治疗带来收益。作用于过氧亚硝酸盐药物的进一步应用可以使我们更加了解过氧亚硝酸盐在炎症过程中的作用,也可能为临床治疗脓毒症提供了一种有效手段。

NO、氧自由基、过氧亚硝酸盐对脓毒症心肌的影响主要是通过是通过直接或间接和酶、脂质和 DNA 作用来使细胞的功能受损。过氧亚硝酸盐可以使心肌细胞引起脂质过氧化、线粒体呼吸链受抑制、钠离子/钾离子 ATP 酶受活性抑制和金属蛋白酶-2 激活。过氧亚硝酸盐可引起 DNA 损伤,激活 PARP 途径,从而放大过氧亚硝酸盐的损伤作用。过氧亚硝酸盐引起的 PARP 裂解和 PARP 途径的激活可能是对心肌死亡方式的调节。过氧亚硝酸盐使心肌细胞结构改变,代谢功能障碍,导致心肌细胞凋亡,进而出现心脏功能障碍,其机制有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Rabuel C, Mebazaa A. Septic shock: a heart story since the 1960s [J]. *Intensive Care Med*, 2006, 32(6): 799-807
- 2 Rassaf T, Poll LW, Brouzos P, *et al*. Positive effects of nitric oxide on left ventricular function in humans [J]. *Eur Heart J*, 2006, 27(14): 1699-1705
- 3 Fan J, Frey RS, Malik AB. TLR4 signaling induces TLR2 expression in endothelial cells via neutrophil NADPH oxidase [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(8): 1234-1243
- 4 Supinski GS, Callahan LA. Polyethylene glycol-superoxide dismutase prevents endotoxin-induced cardiac dysfunction [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(11): 1240-1247
- 5 Szabo C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(8): 662-680
- 6 Goldstein S, Czapski G. Reactivity of peroxynitrite versus simultaneous generation of (·)NO and O(·)(-) toward NADH [J]. *Chem Res Toxicol*, 2000, 13(8): 736-741
- 7 Kiss L, Szabo C. The pathogenesis of diabetic complications: the role of DNA injury and poly(ADP-ribose) polymerase activation in per-

- oxynitrite-mediated cytotoxicity [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2005, 100(Suppl 1): 29-37
- 8 Ischiropoulos H. Protein tyrosine nitration - an update [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2009, 484(2): 117-121
- 9 Cassina AM, Hodara R, Souza JM, *et al*. Cytochrome c nitration by peroxynitrite [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(28): 21409-21415
- 10 Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease [J]. *Physiol Rev*, 2007, 87(1): 315-424
- 11 Zhang T, Lu X, Li J, *et al*. Inhibition of Na/K-ATPase promotes myocardial tumor necrosis factor- α protein expression and cardiac dysfunction via calcium/mTOR signaling in endotoxemia [J]. *Basic Res Cardiol*, 2012, 107(2): 254
- 12 Lokuta AJ, Maertz NA, Meethal SV, *et al*. Increased nitration of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase in human heart failure [J]. *Circulation*, 2005, 111(8): 988-995
- 13 Chow AK, Cena J, Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 152(2): 189-205
- 14 Polewicz D, Cadete VJ, Doroszko A, *et al*. Ischemia induced peroxynitrite dependent modifications of cardiomyocyte MLC1 increases its degradation by MMP-2 leading to contractile dysfunction [J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(5): 1136-1147
- 15 Borbely A, Toth A, Edes I, *et al*. Peroxynitrite-induced α -actinin nitration and contractile alterations in isolated human myocardial cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 67(2): 225-233
- 16 Mihm MJ, Coyle CM, Schanbacher BL, *et al*. Peroxynitrite induced nitration and inactivation of myofibrillar creatine kinase in experimental heart failure [J]. *Cardiovasc Res*, 2001, 49(4): 798-807
- 17 Levrand S, Vannay-Bouchiche C, Pesse B, *et al*. Peroxynitrite is a major trigger of cardiomyocyte apoptosis in vitro and in vivo [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 41(6): 886-895
- 18 Loukili N, Rosenblatt-Velin N, Li J, *et al*. Peroxynitrite induces HMGB1 release by cardiac cells in vitro and HMGB1 upregulation in the infarcted myocardium in vivo [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(3): 586-594
- 19 Rubbo H, Trostchansky A, O'Donnell VB. Peroxynitrite-mediated lipid oxidation and nitration: mechanisms and consequences [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2009, 484(2): 167-172
- 20 Lancel S, Tissier S, Mordon S, *et al*. Peroxynitrite decomposition catalysts prevent myocardial dysfunction and inflammation in endotoxemic rats [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(12): 2348-2358
- 21 Soriano FG, Lorigados CB, Pacher P, *et al*. Effects of a potent peroxynitrite decomposition catalyst in murine models of endotoxemia and sepsis [J]. *Shock*, 2011, 35(6): 560-566

(收稿日期:2014-01-06)

(修回日期:2014-01-15)