

# 一氧化氮和过氧亚硝酸阴离子的心肌损害作用

罗 义<sup>1</sup>综述, 刘伊丽<sup>2</sup>, 陈 媛<sup>3</sup>审校

(1. 广州市第一人民医院心内科, 广州 510180; 2. 第一军医大学南方医院心内科, 广州 510515;

3. 第一军医大学自由基医学研究所, 广州 510515)

[主题词] 一氧化氮; 自由基; 过氧亚硝酸, 阴离子; 心肌; 再灌注损伤

[摘 要] 一氧化氮生成过多对心血管系统有显著的不良作用, 尤其是一氧化氮与超氧阴离子反应形成的过氧亚硝酸阴离子是一种强效细胞毒性物质, 在心肌损害的发生中起着重要作用。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

一氧化氮(nitric oxide, NO)具有许多良性心血管生理效应, 如舒张血管、调节局部血流, 抑制血管平滑肌细胞增殖, 抑制血小板粘附聚集以防止血栓形成, 通过抑制白细胞粘附分子 CD11/CD18 的活性或表达而发挥抗白细胞作用, 因此, NO 不足与许多心血管病的发生发展有关<sup>[1]</sup>, 如高血压病、血栓形成、动脉粥样硬化、冠心病心绞痛、心肌梗死和血管成形术后再狭窄等。然而, 近年来大量资料表明<sup>[2-13]</sup>, NO 生成过多对心血管系统也有显著的不良作用, 尤其是 NO 与超氧阴离子(superoxide anion,  $\cdot\text{O}_2^-$ )反应形成的过氧亚硝酸阴离子(peroxynitrite,  $\text{ONOO}^-$ )是一种强效细胞毒性物质, 在心肌损害的发生中起着重要作用, 现综述如下。

## 1 一氧化氮和过氧亚硝酸阴离子的生化特性

以往的文献认为一氧化氮半衰期短、反应活性高。最近的研究表明<sup>[7]</sup>, 生理浓度下一氧化氮的半衰期并不短, 在体内的反应活性比体外测定的反应活性要低得多。一氧化氮的半衰期是可变的, 与浓度呈反比。一氧化氮在水中的饱和浓度约 2 mmol/L, 其半衰期小于 1 s。机体生理溶液中一氧化氮的浓度比饱和浓度低 1 千~20 万倍, 约 5 nmol/L(激活鸟苷酸环化酶所需的最小浓度)~4  $\mu\text{mol/L}$ (在脑缺血中所测得的最大浓度), 5 nmol/L 一氧化氮的半衰期约 70 h<sup>[7]</sup>。15~100 kU/L 超氧化物歧化酶可使一氧化氮的半衰期延长一倍, 提示 $\cdot\text{O}_2^-$  缩短一氧化氮的半衰期。一氧化氮在血液中迅速被红细胞中的氧合血红蛋白分解破坏, 但血浆本身不消耗一氧化氮<sup>[7]</sup>。一氧化氮带有一个未配对的电子, 是一种自由基, 但并不因此就具有很高的反应活性。在无氧条件下一氧化氮使有机分子氧化的速率与分子氧相同<sup>[7]</sup>。大多数生物分子中的化学键是由两个电子构成的, 因此不易与一氧化氮发生反应。一氧化氮只与那些带有未配对电子的分子(即其

它自由基)和过渡金属(transition metals, 如血红素铁)快速发生反应<sup>[7]</sup>。根据反应速率, 一氧化氮的生物化学反应可简单地归纳为三个, 即激活鸟苷酸环化酶而传导信号、与氧合血红蛋白反应而被破坏、与 $\cdot\text{O}_2^-$  反应而转化为  $\text{ONOO}^-$ <sup>[7]</sup>。一氧化氮不带电荷, 可自由快速地扩散于膜性结构。

在病理状态下, NO 在体内生成的浓度高到足以使它竞争 $\cdot\text{O}_2^-$  的能力超过超氧化物歧化酶的唯一生物分子<sup>[7]</sup>。NO/ $\cdot\text{O}_2^-$  反应形成  $\text{ONOO}^-$ , 其过程是不可逆的, 此反应的速率 $[6.7 \times 10^9 \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s})]$  远大于超氧化物歧化酶/ $\cdot\text{O}_2^-$  反应的速率 $[2 \times 10^9 \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s})]$ <sup>[7]</sup>, 而且无需酶催化, 只要同时有大量 NO 和 $\cdot\text{O}_2^-$  生成, NO/ $\cdot\text{O}_2^-$  反应形成  $\text{ONOO}^-$  就占主导地位。最近 Sharpe 等<sup>[14]</sup>报道了  $\text{ONOO}^-$  生成的另一途径, 即 NO/亚铁细胞色素 C 途径。NO 与亚铁细胞色素 C 反应生成 NO- 和高铁细胞色素 C, NO- 再与  $\text{O}_2$  反应生成  $\text{ONOO}^-$ 。

$\text{ONOO}^-$  本身不是自由基, 因为 NO 和 $\cdot\text{O}_2^-$  各自的未配对电子已结合在一起形成了新的化学键。超氧化物歧化酶能迅速结合  $\text{ONOO}^-$ , 其分子中的过渡金属催化  $\text{ONOO}^-$  异裂为氢氧根(hydroxyl anion,  $\text{OH}^-$ )和硝酸根离子(nitronium ion,  $\text{NO}_2^+$ )<sup>[15]</sup>。众所周知,  $\text{NO}_2^+$  攻击苯酚类化合物而产生硝基苯酚。在生物体内,  $\text{NO}_2^+$  攻击蛋白质酪氨酸残基的苯环结构, 使酪氨酸硝基化形成 3-硝基酪氨酸<sup>[7]</sup>。超氧化物歧化酶既是 $\cdot\text{O}_2^-$  的清除剂, 可减少  $\text{ONOO}^-$  的产生, 同时却又是  $\text{ONOO}^-$  使酪氨酸硝基化的催化剂。用化学方法修饰超氧化物歧化酶后, 其清除 $\cdot\text{O}_2^-$  的活性丧失 99% 以上, 但与  $\text{ONOO}^-$  的反应无显著影响<sup>[7]</sup>。

近来的生化研究证实<sup>[7,16,17]</sup>,  $\text{ONOO}^-$  是一种强效氧化剂, 其氧化能力比过氧化氢大 2 000 倍。 $\text{ONOO}^-$  生成后会在生物体内留下 2 个重要标志, 即芳香氨基酸的硝基化和羟化, 硝基酪氨酸就是重要标志物之一<sup>[7,16]</sup>。由于  $\text{ONOO}^-$  在体内的反应动力学很复杂, 加上体内又有内源性抗氧化物存在, 因此很难估计体内  $\text{ONOO}^-$  的浓度。用抗硝基酪氨酸的单克隆抗体检测到硝基酪氨酸的存在是组织受到  $\text{ONOO}^-$  损伤的特异性证据<sup>[7,17]</sup>。一氧化氮的合成受一氧化氮合酶表达及其活性的调节<sup>[11]</sup>。一氧化氮合酶分为组成型和诱导型,

[作者简介] 罗义, 男, 1963 年出生, 湖南湘潭市人, 副主任医师, 副教授, 医学博士, 主要研究方向为冠心病的基础和临床。刘伊丽, 女, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 中华医学会广东省心血管学会副主任委员, 主要研究方向为冠心病的基础和临床。

组成型一氧化氮合酶激活引起细胞瞬时合成少量的 NO 而起传递细胞信息的作用,诱导型一氧化氮合酶表达则引起细胞持续合成大量 NO 而发挥细胞毒作用<sup>[11]</sup>。脂多糖和多种细胞因子可诱导心肌组织中的多种细胞(包括心肌细胞)产生诱导型一氧化氮合酶<sup>[10]</sup>。研究表明<sup>[9]</sup>,细胞因子引起心肌中的各种细胞生成大量 NO 的同时还产生大量  $\cdot\text{O}_2^-$ 。用电子顺磁共振技术揭示一氧化氮合酶能同时催化 NO 和  $\cdot\text{O}_2^-$  的生成, $\cdot\text{O}_2^-$  的生成需要一氧化氮合酶的激活并受精氨酸含量的调节<sup>[17]</sup>。

## 2 一氧化氮和过氧亚硝酸阴离子损害心肌的证据

研究发现<sup>[2,8]</sup>,在感染性休克或内毒素血症的动物模型中,由诱导型一氧化氮合酶引起的 NO 过度生成导致心肌  $\beta$ -肾上腺素能反应减低、心肌收缩力减弱及心脏扩张,而一氧化氮合酶抑制剂则可纠正内毒素和肿瘤坏死因子- $\alpha$  等引起的心肌收缩力减弱和提高多巴酚丁胺、异丙肾上腺素的正性肌力作用。Becker 等<sup>[18]</sup>报道,由诱导型一氧化氮合酶产生的过量 NO 可引起休克、细胞凋亡、甚至细胞坏死。临床观察发现,败血症患者体内 NO 生成增加<sup>[19]</sup>,一氧化氮合酶抑制剂可减轻感染性休克患者的循环功能紊乱,已发展到慢性心力衰竭的扩张型心肌病和缺血性心脏病患者血浆硝酸盐水平明显高于正常人<sup>[20]</sup>,扩张型心肌病患者心肌中诱导型一氧化氮合酶活性明显高于正常。

NO 对缺血心肌的影响尚有争论。研究显示<sup>[21-23]</sup>,NO 供体药或 L-精氨酸可明显改善心肌缺血再灌注损伤,促进心肌功能的恢复。然而,Matheis 等以心肺动脉搭桥导致缺氧、再氧合性心肌损伤后,发现实验鼠的冠状动脉窦血中 NO 含量明显增加,而用 NG-硝基-L-精氨酸甲酯使 NO 含量减少则可明显减轻甚至免除上述原因引起的心肌损害。Morita 等<sup>[3]</sup>报道,缺血再灌注心肌的细胞脂质过氧化损伤和心功能失常与大量 NO 的产生有关,在体外循环预充液中加入一氧化氮合酶抑制剂能起到保护作用。

NO 不足会引起心血管功能障碍,NO 过多也会导致心血管损害,后一种情况常伴有氧自由基和 ONOO<sup>-</sup> 形成<sup>[24]</sup>。研究认为,ONOO<sup>-</sup> 是细胞因子诱导的心肌收缩功能衰竭的主要介导体<sup>[25]</sup>。在细胞因子诱导的犬心肌损害模型中,心肌中硝基酪氨酸水平与心肌功能障碍程度正相关<sup>[26]</sup>。Oyama 等<sup>[10]</sup>在活体犬模型用带有白细胞介素-1 $\beta$  的微球注入左冠状动脉,发现注射后 7 天内左室射血分数显著减低,心肌中有硝基酪氨酸形成且浓度与左室射血分数显著负相关,若预先应用选择性诱导型一氧化氮合酶抑制剂氨基胍(aminoguanidine)则可防止心肌功能障碍,心肌中硝基酪氨酸浓度也减低。另有报道应用特异性抑制剂抑制  $\cdot\text{O}_2^-$  生成也能防止白细胞介素-1 $\beta$  引起的持续性心肌功能障碍和 ONOO<sup>-</sup> 形成<sup>[9]</sup>。心脏停跳液中如果含有 ONOO<sup>-</sup>,则会在心脏停跳处理和再灌注后引起冠状动脉内皮损害和心脏收缩功能障碍<sup>[27]</sup>。谷胱甘肽通过解除 ONOO<sup>-</sup> 的毒性而减少缺血再灌注心肌中白细胞在冠状动脉内皮上的粘附,保护内皮功能,减轻白细胞所引起的心肌损害,促进心肌功能的恢复<sup>[27,28]</sup>。免

疫组化染色发现<sup>[7]</sup>,败血症和心肌炎患者的心肌细胞有广泛的硝基化。

Liu 等<sup>[11]</sup>首次在活体实验中证实心肌缺血再灌注过程中有 ONOO<sup>-</sup> 形成。他们将大鼠左冠状动脉主干结扎 20 min、再灌注 5 h,心脏缺血区组织  $\cdot\text{O}_2^-$  和 NO 水平分别增高 140% 和 90%,总一氧化氮合酶活性增高 212%,诱导型一氧化氮合酶活性增高 6.7 倍,用免疫组化染色证实缺血区心肌组织中有诱导型一氧化氮合酶表达和硝基酪氨酸生成。Zingarelli 等<sup>[12]</sup>报道,大鼠左冠状动脉主干结扎 1 h 后再灌注 1 h,引起严重心肌坏死,坏死心肌中硝基酪氨酸显著增加。用电子顺磁共振分光术也证实,缺血再灌注心肌中有 ONOO<sup>-</sup> 存在,而且硝基酪氨酸形成增加<sup>[4]</sup>。抑制 NO 继而抑制 ONOO<sup>-</sup> 形成能减轻体外心肌缺氧/再氧合损伤<sup>[5,6]</sup>。

3-Morpholinosydnonimine 能同时生成 NO 和  $\cdot\text{O}_2^-$ ,最近采用直接 NO 测定法研究表明<sup>[13]</sup>,该化学物质在生理溶液中不释放 NO,而是释放 ONOO<sup>-</sup>,超氧化物歧化酶和该化学物质一起加入生理溶液中则释放 NO。因此,在近来的研究中该化学物质被用作 ONOO<sup>-</sup> 供体药。Ma 等<sup>[13]</sup>使离体灌注大鼠心脏缺血 30 min、再灌注 60 min,在再灌注时应用该化学物质,心肌损害加重,若该化学物质与超氧化物歧化酶合用,则其有害作用被完全阻断,而显示出明显细胞保护作用。此研究表明,NO 有细胞保护作用,而 NO/ $\cdot\text{O}_2^-$  反应形成的 ONOO<sup>-</sup> 则具有细胞毒作用。

最近的研究认为,ONOO<sup>-</sup> 是一把“双刃剑”,对心肌的直接作用是毒性作用,但低浓度时扩张血管、抑制血小板聚集和白细胞粘附而间接保护缺血再灌注心肌,浓度较高时则明显损害心肌<sup>[29]</sup>。含巯醇物质如谷胱甘肽、白蛋白和半胱氨酸可使 ONOO<sup>-</sup> 转变成亚硝基硫醇和相关物质,后者有抗中性粒细胞作用和心血管保护作用<sup>[30]</sup>。

总之,大量证据表明,NO 的过量生成是多种心血管病中心肌损害发生的基础,ONOO<sup>-</sup> 在这种心肌损害的发生中起着关键作用。

## 3 一氧化氮和过氧亚硝酸阴离子损害心肌的机制

一氧化氮损害心肌功能的机制尚未完全阐明,目前的研究提示主要包括 cGMP 机制和 ONOO<sup>-</sup> 机制。NO 负性肌力作用的机制可能是通过增强心肌细胞的毒覃碱能副交感神经刺激、抑制  $\beta$ -肾上腺素能刺激,即由 cGMP 介导的  $\text{Ca}^{2+}$  内流抑制效应而实现的<sup>[3,31]</sup>。NO 与心肌细胞胞浆中的可溶性鸟苷酸环化酶激活位点上的铁离子结合而使此酶激活,后者使 GTP 水解生成 cGMP, cGMP 作为第二信使激活 cGMP 依赖性蛋白激酶,减少细胞  $\text{Ca}^{2+}$  内流;同时激活的蛋白激酶可增加细胞膜  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性,使  $\text{Ca}^{2+}$  外流增加,而致胞浆  $\text{Ca}^{2+}$  浓度降低,从而降低心肌细胞的收缩功能<sup>[31]</sup>,此即 cGMP 机制。近来研究认为,NO 发挥器质性心肌损害作用的真正途径可能是 ONOO<sup>-</sup> 途径。ONOO<sup>-</sup> 发挥细胞毒作用可能主要是通过下列机制实现的。

### 3.1 氧化作用

ONOO<sup>-</sup> 是一种强氧化剂,能与多种分子发生反应,特别

是氧化铁/硫中心、锌指结构和蛋白巯基,引起蛋白质、脂质和DNA的氧化性损害<sup>[7,16,17]</sup>。谷胱甘肽氧化导致细胞内外最重要的自由基清除机制被削弱,更有助于ONOO<sup>-</sup>的生成,形成恶性循环。ONOO<sup>-</sup>还能产生羟自由基来攻击生物分子<sup>[7]</sup>。

### 3.2 硝基化作用

ONOO<sup>-</sup>与蛋白质分子中的酪氨酸反应形成硝基酪氨酸而影响蛋白质功能<sup>[7,16,17]</sup>。研究认为,硝基酪氨酸是ONOO<sup>-</sup>细胞毒性的主要介导分子<sup>[32]</sup>。心肌细胞结构蛋白中的酪氨酸残基硝基化会导致肌丝解体,因此提出NO的心肌抑制作用可能是心肌细胞中的收缩蛋白硝基化所致<sup>[7]</sup>。Western印迹分析显示,败血症和心肌炎患者心肌细胞中硝基化的蛋白好像是肌动蛋白,用四硝基甲烷可人为地使肌动蛋白硝基化而致蛋白组装异常<sup>[7]</sup>。低浓度ONOO<sup>-</sup>即可使酪氨酸硝基化,不可逆地降低心肌收缩和舒张功能<sup>[33]</sup>。

### 3.3 影响能量代谢

酶蛋白被氧化或硝基化后活性减低,如线粒体ATP合成酶、乌头酸酶活性受抑制导致能量生成减少<sup>[10]</sup>。ONOO<sup>-</sup>可引起心肌细胞线粒体细胞色素C脱失,导致线粒体氧化障碍<sup>[34]</sup>。研究显示<sup>[12]</sup>,ONOO<sup>-</sup>是多聚ADP-核糖合成酶(poly ADP-ribose synthetase)的强烈激活物,此酶激活后会启动消耗能量的无效修复循环,即把ADP核糖转移到核蛋白上,其结果是细胞内NAD<sup>+</sup>和ATP能量池迅速耗竭,进而导致细胞功能障碍,最后细胞死亡,抑制此酶能减轻ONOO<sup>-</sup>介导的心肌损伤。

### 3.4 干扰钙转运

ONOO<sup>-</sup>可干扰细胞钙转运系统,如使Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>交换蛋白的巯基氧化而导致该蛋白功能障碍,Ca<sup>2+</sup>内流增加,引起细胞钙超载,损害心肌细胞,并导致心肌细胞机械功能障碍,甚至停搏于舒张期<sup>[35,36]</sup>。

总之,由诱导型一氧化氮合酶途径产生的NO和继而形成的ONOO<sup>-</sup>在多种心血管病心肌损害的发生中起着中心作用,其具体机制有待深入研究。应用选择性诱导型一氧化氮合酶抑制剂如氨基胍或ONOO<sup>-</sup>清除剂可能会有效防止这种心肌损害,此类药物的研制将为心肌保护开辟一条崭新的道路。

### 参考文献

- [1] 李中言, 赵连友. 一氧化氮与心血管疾病[J]. 中华心血管病杂志, 1996, **24**: 73-76
- [2] Brady AJB, Warren JB, Poole-Wilson PA, et al. Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction [J]. *Am J Physiol*, 1993, **265**: H176- H182
- [3] Morita K, Ihnken K, Buchberg GD, et al. Role of controlled cardiac reoxygenation in reducing nitric oxide production and cardiac oxidant damage in cyanotic infantile hearts [J]. *J Clin Invest*, 1994, **93**: 2658- 662
- [4] Wang P, Zweier JL. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart [J]. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 29 223- 230

- [5] Schulz R, Wambolt R. Inhibition of nitric oxide synthesis protects the isolated working rabbit heart from ischemia-reperfusion injury [J]. *Cardiovasc Res*, 1995, **30**: 432- 439
- [6] Naseem SA, Kontos MC, Rao PS, et al. Sustained inhibition of nitric oxide by NG-nitro-L-arginine improves myocardial function following ischemia/reperfusion in isolated perfused rat heart [J]. *J Mol Cell Card*, 1995, **27**: 419- 426
- [7] Bechman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly [J]. *Am J Physiol*, 1996, **271**(cell Physiol 40): C1 424- 437
- [8] Herbertson MJ, Werner HA, Walley KR. Nitric oxide synthase inhibition partially prevents decreased LV contractility during endotoxemia [J]. *Am J Physiol*, 1996, **270**: H1 979- 984
- [9] Cheng XS, Shimokawa H, Momii H, et al. Role of superoxide anion in the pathogenesis of cytokine-induced myocardial dysfunction in dogs in vivo [J]. *Circulation*, 1997, **96**(Suppl): 1 605( Abstr)
- [10] Oyama JI, Shimokawa H, Momii H, et al. Role of nitric oxide and peroxynitrite in the cytokine-induced sustained myocardial dysfunction in dogs in vivo [J]. *J Clin Invest*, 1998, **101**: 2 207- 214
- [11] Liu P, Hock CE, Nagele R, et al. Formation of nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Am J Physiol*, 1997, **272**(5 Pt 2): H2 327- 336
- [12] Zingarelli B, Cuzzocrea S, Zsengeller Z, et al. Protection against myocardial ischemia and reperfusion injury by 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-ribose) synthetase [J]. *Cardiovasc Res*, 1997, **36**: 205- 215
- [13] Ma XL, Lopez BL, Liu GL, et al. Peroxynitrite aggravates myocardial reperfusion injury in the isolated perfused rat heart [J]. *Cardiovasc Res*, 1997, **36**: 195- 204
- [14] Sharpe MA, Cooper CE. Reactions of nitric oxide with mitochondrial cytochrome c: a novel mechanism for the formation of nitroxyl anion and peroxynitrite [J]. *Biochem J*, 1998, **332**(Pt1): 9- 19
- [15] Sampson JB, Rosen H, Beckman JS. Peroxynitrite dependent tyrosine nitration catalyzed by superoxide dismutase, myeloperoxidase and horseradish peroxidase [J]. *Methods Enzymol*, 1996, **269**: 210- 218
- [16] Prvor WA, Smadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide [J]. *Am J Physiol*, 1995, **268**: L699- L722
- [17] 周玫, 陈瑗. 体内一氧化氮和过氧亚硝酸的生成及其生物学效应[J]. 中国动脉硬化杂志, 1998, **6**: 178- 181
- [18] Becker BF, Kupatt C, Massoudy P, et al. Reactive oxygen species and nitric oxide in myocardial ischemia and reperfusion [J]. *Z Kardiol*, 2000, **89**(4): IX/88- 91
- [19] Evans T, Carpenter A, Kinderman H, et al. Evidence of increased nitric oxide production in patients with the sepsis syndrome [J]. *Circ Shock*, 1993, **41**: 77- 81
- [20] Winlaw DS, Smythe GA, Keogh AM, et al. Increased nitric oxide production in heart failure [J]. *Lancet*, 1994, **344**: 373- 374
- [21] Vinten-Johansen J, Sato H, Zhao ZQ. The role of nitric oxide and NO-donor agents in myocardial protection from surgical ischemic-reperfusion injury [J]. *Int J Cardiol*, 1995, **50**: 273- 281

- [ 22 ] Beresewicz A, Karwatowska-Prokopczuk E, Lewartowski B, et al. A protective role of nitric oxide in isolated ischaemic reperfused rat heart [ J ]. *Cardiovasc Res*, 1995, **30**: 1 001– 008
- [ 23 ] Li XS, Uriuda Y, Wang QD, et al. Role of L- arginine in preventing myocardial and endothelial injury following ischaemia/reperfusion in the rat isolated heart [ J ]. *Acta Physiol Scand*, 1996, **156**: 37 – 44
- [ 24 ] Shah AM, MacCarthy PA. Paracrine and autocrine effects of nitric oxide on myocardial function [ J ]. *Pharmacol Ther*, 2000, **86**: 49 – 86
- [ 25 ] Ferdinandy P, Danial H, Ambrus I, et al. Peroxynitrite is a major contributor to cytokine- induced myocardial contractile failure [ J ]. *Circ Res*, 2000, **87**: 241– 247
- [ 26 ] Nakazawa H, Fukuyama N, Takizawa S, et al. Nitrotyrosine formation and its role in various pathological conditions [ J ]. *Free Radic Res*, 2000, **33**: 771– 784
- [ 27 ] Nakamura M, Thourani VH, Ronson RS, et al. Glutathione reverses endothelial damage from peroxynitrite, the byproduct of nitric oxide degradation, in crystalloid cardioplegia [ J ]. *Circulation*, 2000, **102**( 19 Suppl 3 ): III332– 338
- [ 28 ] Cheung PY, Wang W, Schulz R. Glutathione protects against myocardial ischemia- reperfusion injury by detoxifying peroxynitrite [ J ]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, **32**: 1 669– 678
- [ 29 ] Ma XL, Gao F, Lopez BL, et al. Peroxynitrite, a two- edged sword in post- ischemic myocardial injury- dichotomy of action in crystalloid- versus blood- perfused hearts [ J ]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, **292**: 912– 920
- [ 30 ] Ronson RS, Nakamura M, Vinten- Johansen J. The cardiovascular effects and implications of peroxynitrite [ J ]. *Cardiovasc Res*, 1999, **44**: 47– 59
- [ 31 ] Mery PF, Lohmann SM, Walter U, et al.  $\text{Ca}^{2+}$  current is regulated by cyclic GMP- dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes [ J ]. *Proc Natl Acad Sci*, 1991, **88**: 1 197– 204
- [ 32 ] Seo HG, Tannenbaum SR. Identification of a stress- inducible protein containing nitrotyrosine in RAW264. 7 cells activated by IFN-  $\gamma$  and LPS. Proceedings of the 5th international meeting on the biology of nitric oxide [ J ]. *Jpn J Pharmacol*, 1997, **75** ( Suppl 1 ): 105
- [ 33 ] Digerness SB, Harris KD, Kirklin JW, et al. Peroxynitrite irreversibly decreases diastolic and systolic function in cardiac muscle [ J ]. *Free Radic Biol Med*, 1999, **27** ( 11– 12 ): 1 386– 392
- [ 34 ] Borutaite V, Morkuniene R, Brown GC. Release of cytochrome from heart mitochondria is induced by high  $\text{Ca}^{2+}$  and peroxynitrite and is responsible for  $\text{Ca}^{2+}$ - induced inhibition of substrate oxidation [ J ]. *Biochem Biophys Acta*, 1999, **1453**: 41– 48
- [ 35 ] Ishid H, Ichimori K, Hirota Y, et al. Peroxynitrite- induced cardiac myocyte injury [ J ]. *Free Rad Biol Med*, 1996, **20**: 343– 350
- [ 36 ] Ishida H, Genka C, Hirota Y, et al. Distinct roles of peroxynitrite and hydroxyl radical in triggering stunned myocardium- like impairment of cardiac myocytes in vitro [ J ]. *Mol Cell Biochem*, 1999, **198** ( 1– 2 ): 31– 38

(此文 2000- 08- 10 收到, 2001- 04- 01 修回)

(此文编辑 朱雯霞)