

本文引用: 朱诗瑶, 贺雪珂, 陈豪, 等. 硝基化修饰蛋白质在心血管内皮功能障碍中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(1): 65-71. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.01.009.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-01-0065-07

· 文献综述 ·

硝基化修饰蛋白质在心血管内皮功能障碍中的作用

朱诗瑶¹, 贺雪珂¹, 陈豪¹, 赵小梅², 姜淼¹

1. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室 湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地,
2. 南华大学公共卫生学院, 湖南省衡阳市 421001

[摘要] 内皮功能障碍作为多种心血管疾病共同的特征之一,与过量表达的活性氧(ROS)/活性氮(RNS)密切相关。超氧阴离子与一氧化氮(NO)反应可以生成氧化能力更强的过氧亚硝酸盐,可以通过氧化多种蛋白质耗竭NO,导致内皮收缩与舒张功能障碍,在多种心血管疾病中发挥了重要的作用。该文通过综述硝基化修饰蛋白质产生的途径及其在心血管疾病中促进内皮功能紊乱的可能机制,讨论了ROS/RNS介导的硝基化修饰与内皮功能障碍之间相互促进,共同推动心血管疾病进程的关系。该文还讨论了清除过氧亚硝酸盐、抑制ROS产生途径以及直接增强内皮细胞功能的治疗策略在内皮功能障碍相关的心血管疾病中的应用,可以为进一步研究蛋白质硝基化修饰这一蛋白质翻译后修饰作为干预靶点在心血管疾病中的作用提供参考。

[关键词] 蛋白质硝基化修饰; 活性氧; 活性氮; 内皮功能障碍; 动脉粥样硬化; 心血管疾病

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A

The role of nitrated modified proteins in cardiovascular endothelial dysfunction

ZHU Shiyao¹, HE Xueke¹, CHEN Hao¹, ZHAO Xiaomei², JIANG Miao¹

1. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & Hunan International Joint Laboratory for Arteriosclerotic Disease, 2. School of Public Health, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China

[ABSTRACT] Endothelial dysfunction, a common feature of various cardiovascular diseases, is closely associated with the overexpression of reactive oxygen species (ROS)/reactive nitrogen species (RNS). The reaction between superoxide anion and nitric oxide (NO) can generate peroxynitrite with stronger oxidation ability, which can deplete NO by oxidizing various proteins, leading to endothelial contraction and relaxation dysfunction, and playing an important role in various cardiovascular diseases. This article reviews the pathways through which nitrosylation modified proteins are produced and the possible mechanisms by which they promote endothelial dysfunction in cardiovascular disease. It discusses the relationship between ROS/RNS mediated nitrosylation modification and endothelial dysfunction, which together promote the progression of cardiovascular disease. The article also discusses the application of therapeutic strategies such as clearing peroxynitrite, inhibiting ROS production pathways, and directly enhancing endothelial cell function in cardiovascular diseases related to endothelial dysfunction, which can provide reference for further research on the role of protein nitration modification as a post-translational intervention target in cardiovascular diseases.

[KEY WORDS] protein nitration modification; reactive oxygen species; reactive nitrogen species; endothelial dysfunction; atherosclerosis; cardiovascular disease

内皮功能障碍作为多种心血管疾病共同的特征之一,与过量表达的活性氧(reactive oxygen species,

ROS)/活性氮(reactive nitrogen species, RNS)密切相关。内皮功能障碍通常由于一氧化氮(nitric oxide,

[收稿日期] 2023-03-22

[修回日期] 2023-05-08

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(32101018);湖南省自然科学基金面上项目(2023JJ30522);南华大学博士启动基金项目(190XQD014)

[作者简介] 朱诗瑶,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化病因发病学与防治基础,E-mail:1139743598@qq.com。姜淼,讲师,博士,硕士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化及其发病机制,E-mail:miao_jiang@usc.edu.cn。

NO)的产生与消耗之间的紊乱,引起内皮依赖性收缩舒张功能损伤。ROS是氧化性质活泼的一类含氧化合物的总称,包括氧自由基(如超氧阴离子 $\cdot O_2^-$ 、羟基自由基 $\cdot OH$)、单线态氧和过氧化氢等。 $\cdot O_2^-$ 可与NO反应生成过氧亚硝酸盐 $ONOO^-$,可以通过阴离子通道穿过细胞膜,相对于 $\cdot O_2^-$ 仅能扩散几微米, $ONOO^-$ 扩散范围更远,氧化能力也更强^[1]。 $ONOO^-$ 介导的3-硝基-酪氨酸(3-nitrotyrosine, 3-NT)形成被认为是一个新的心血管损伤标志物^[2]。3-NT可以被脱硝基化或还原,从而影响其介导的信号传递或诱导蛋白质结构功能改变^[3]。

该文综述了3-NT相关生成的途径及其与心血管疾病中内皮功能障碍之间的关系,并围绕不同心血管疾病模型中3-NT的过量生成及其影响内皮功能的可能机制展开讨论。最后讨论了针对3-NT的抗氧化治疗在改善内皮功能障碍中的应用,可为进一步研究蛋白质硝基化修饰这一蛋白质翻译后修饰在心血管疾病中的作用提供参考。

1 蛋白质酪氨酸硝基化修饰参与内皮细胞损伤

内皮细胞损伤广泛出现于各种心血管疾病中,ROS/RNS过量产生及其衍生的脂质、蛋白质氧化修饰(如蛋白质硝基化修饰)可以加剧内皮细胞损伤以及疾病的进程,并伴随着NO生物利用度的降低。正常机体内蛋白质的酪氨酸残基中仅有1/106可能发生硝基化修饰,病理状态下酪氨酸硝基化修饰程度显著升高^[2]。酪氨酸发生硝基化修饰主要分为两步,即酪氨酸苯环上邻位碳原子发生单电子氧化生成酪氨酸自由基 $Tyr\cdot$,之后 $Tyr\cdot$ 与 $\cdot NO_2$ 发生结合形成3-NT^[4]。这两个过程均与ROS密切相关, $\cdot OH$ 、羰基自由基 $\cdot CO_3^-$ 、脂氧自由基 $LO\cdot$ 、脂过氧自由基 $LOO\cdot$ 以及过氧化物酶催化的化合物I和II都可以诱导 $Tyr\cdot$ 的产生。 $\cdot NO_2$ 的生成则主要依赖于两种不同的途径,过氧化物酶如髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)等催化形成或者 $ONOO^-$ 直接氧化均可以产生 $\cdot NO_2$ ^[2]。

体外实验证实 $ONOO^-$ 可以促进内皮细胞3-NT的形成,显著增强内皮细胞损伤。因此,在大量的研究中,3-NT常被作为 $ONOO^-$ 生成的标志物。游离3-NT和 $ONOO^-$ 生成剂3-吗啉吡啶亚胺均能以浓度依赖的方式减弱乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)相关的血管舒张反应,游离3-NT促进DNA损伤和凋

亡,而单纯酪氨酸处理却不能诱导损伤^[5]。此外, $ONOO^-$ 还可诱导过氧化氢处理后的内皮细胞损伤,增加微血管通透性,而一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)抑制剂左旋单甲基精氨酸可减轻这种损伤^[6]。 $ONOO^-$ 暴露于主动脉环可干扰NO-环鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)通路,进而显著损害内皮依赖性血管舒张功能。低剂量磷酸二酯酶抑制剂伐地那非预处理可减少RNS的产生,增加cGMP的表达,改善内皮功能^[7]。在血清饥饿引起的氧化应激下,蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)的酪氨酸硝基化修饰作用显著增强,导致内皮细胞生长停滞,抑制毛细血管芽生和激活细胞凋亡途径^[8]。

体内实验证明不同病理状态下,内皮功能障碍的同时会升高3-NT水平,抑制蛋白质硝基化修饰可以部分恢复血管功能。高同型半胱氨酸血症患者血浆同型半胱氨酸浓度显著增加,升高3-NT水平的同时降低NO生物利用度,引起内皮功能障碍。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)模拟物四甲基吡啶治疗可使同型半胱氨酸处理的血管舒张正常化,降低3-NT水平,恢复受损的内皮细胞功能^[9]。血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)是自由基 O_2^- 和 $ONOO^-$ 的刺激因子,参与了许多心血管疾病的发生、发展。Ang II及其受体的自身抗体可以损伤内皮依赖性血管舒张功能,可能与诱导型NOS(induced NOS, iNOS)激活和 $ONOO^-$ 的产生增加有关,并且 $ONOO^-$ 介导的内皮功能障碍的发生被认为先于Ang II直接诱导的血管病理改变^[10]。非对称二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)是一种内源性内皮型NOS(endothelial NOS, eNOS)抑制剂,能显著降低缓激肽引起的血管舒张,同时通过eNOS解耦联减少NO生成和增加 O_2^- 生成。ADMA还介导eNOS线粒体易位,导致线粒体功能障碍,从而增加线粒体来源的ROS和减少ATP生成^[11]。血脂异常升高可以促进内皮细胞损伤,通过激活多聚ADP-核糖聚合酶1[poly(ADP-ribose)-polymerase-1, PARP-1],激活iNOS表达和活性,促进蛋白质硝基化修饰。PARP-1基因缺失显著降低氧化型低密度脂蛋白诱导的精氨酸酶II的上调,精氨酸酶II与eNOS竞争共享同一底物L-精氨酸,从而通过保留eNOS活性来保护内皮功能^[12]。C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是一个众所周知的炎症和心血管疾病的生物标志物,据报道可以减弱NO介导的血管舒张。CRP可刺激 $ONOO^-$ 的产生,诱导前列环素I₂(prostacyclin I₂, PGI₂)合成酶

(PGI2 synthase, PGIS) 硝基化修饰, 损害 PGIS 功能。这使 PGI2 的释放减少、血管舒张能力减弱、内皮功能损伤, 导致心血管疾病进展加速^[13]。综上, 大量体内实验表明, ROS 通过进一步消耗 NO, 诱导 3-NT 形成, 介导内皮功能障碍, 促进心血管疾病的进展。

2 不同心血管疾病中的硝基化蛋白

2.1 动脉粥样硬化中的硝基化修饰蛋白

内皮功能障碍在动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的发生发展中起着关键作用。多种原因诱导的 As 模型中, 硝基化修饰蛋白水平显著升高, 其与内皮细胞损伤的关联也得到了更多关注。高脂高胆固醇饮食相比于常规饮食, 内皮细胞中的硝基化修饰蛋白水平显著升高, 主动脉对 ACh 反应的内皮舒张功能显著下降^[2]。除此之外, 内皮细胞暴露于低振荡剪切应力的区域, 表现为 eNOS 依赖的超氧化物生成并伴有血管舒缩功能受损, 同时应力感受蛋白整合素连接激酶的硝基化修饰程度也显著升高^[14]。环境污染物质如细颗粒物会诱发炎症反应, 导致血管内皮功能障碍, 加速 As 的发生发展, ONOO⁻ 生成水平也显著增加^[15]。因此, 在多种 As 模型中, 蛋白质硝基化修饰水平升高与内皮功能障碍共同存在, 可能发挥协同促进疾病进程的作用。

不同的蛋白质发生硝基化修饰可能通过不同机制促进 As 疾病进展。与正常冠状动脉相比, 硝基化修饰的载脂蛋白 A1 (apolipoprotein A1, ApoA1) 在人 As 冠状动脉中有较高的检出率^[16]。作为高密度脂蛋白的主要蛋白质成分, ApoA1 的硝基化修饰被认为在高密度脂蛋白的功能失调或促炎的作用中起着重要作用^[17]。过表达 MPO 也可以增加高密度脂蛋白的硝基化修饰水平, 降低内皮细胞的增殖和迁移, 抑制其再内皮化能力, 加速 As 进程^[18]。内皮细胞中的 PGIS 也可以发生硝基化修饰, 修饰后的 PGIS 影响了正常血管系统的舒张功能, 其作用机制可能与 PGI2 的活化和表达水平降低相关, 而 PGI2 的下调可导致血管舒张功能减弱和内皮功能障碍^[19]。层黏连蛋白在 $\gamma 1$ 链 Tyr-145 上可特异性硝基化, 降低与内皮细胞的黏附, 从而导致内皮功能障碍和 As^[20]。这些表明特定的蛋白质酪氨酸硝基化修饰可能是内皮功能障碍的潜在原因, 硝基化修饰引起蛋白质功能改变可以促进 As 的进程。

2.2 硝基化修饰蛋白与高血压

持续血压升高会导致内皮功能障碍, 其与中

风、心肌梗死和心力衰竭等临床急性心血管事件的发生风险增加密切相关。在高血压的发生发展过程中, 内皮细胞中 ROS/RNS 水平显著升高, 引起蛋白质发生硝基化修饰, 诱导内皮功能障碍。双酚 A 可引起 Ang II 依赖性 eNOS 解偶联和自由基的积累, 导致剂量依赖性高血压和 ACh 依赖性颈动脉舒张功能障碍^[21]。自发性高血压大鼠也表现出 eNOS 活性受损, O₂⁻ 和 ONOO⁻ 生成增加, 血管张力丧失。其中 ONOO⁻ 引起内皮功能障碍, 会进一步影响内皮细胞的完整性。而补充 eNOS 的配体四氢生物蝶呤 (tetrahydrobiopterin, BH₄) 可通过抑制 iNOS 减少 ONOO⁻ 的形成, 显著改善自发性高血压大鼠受损的 ACh 依赖性血管反应, 抑制高血压的发展^[22]。野百合碱所致肺动脉高压时 3-NT 水平升高, 伴有内皮功能障碍和肺血管壁增厚, 刺激 κ -阿片受体通过增强 eNOS 活性和减弱 iNOS 活性抑制 3-NT, 改善内皮功能^[23]。这些结果表明 ROS/RNS 诱导的 3-NT 与内皮功能障碍相互促进, 推动高血压相关疾病进程。

特殊的蛋白质作为硝基化修饰的靶点, 在高血压疾病的发生发展中发挥了重要的作用。持续性肺动脉高压的新生羔羊模型中, 肺动脉细胞裂解液中锰超氧化物歧化酶 (manganese superoxide dismutase, MnSOD) 的硝基化修饰水平增加, 而酶活性降低。MnSOD 的硝基化修饰导致 eNOS 功能受损和内皮功能障碍, 通过腺病毒过表达 MnSOD 可以改善肺动脉内皮细胞中 eNOS 的表达和功能, 使血管恢复对 ACh 的反应性舒张^[4]。PGIS 中 Tyr430 的硝基化修饰降低了 PGIS-血红素硫酸盐中心的催化反应, 改变 PGI2-血栓素 A2 信号通路的活化状态, 导致内皮功能障碍, 进而损害血管生成^[24]。PGIS 硝基化修饰也增加了 PGH2 的水平, 进而影响血栓素 A2 的合成。此外, cGMP 依赖性蛋白激酶 G1 α (protein kinase G-1 α , PKG-1 α) 在肺动脉内皮细胞中发生硝基化修饰, 其 Tyr247 位点的硝基化可修饰能通过降低 PKG-1 α 亲和力而降低 PKG-1 α 的催化活性, 而 PKG-1 α 的催化活性受损可能导致血管功能障碍^[25]。在肺动脉高压山羊分离出来的肺动脉内皮细胞中, RhoA 3-NT 水平增加, 通过硝基化封闭肽抑制其硝基化修饰, 可以显著逆转肺动脉高压引起的线粒体分裂和内皮细胞代谢异常^[26]。这些发现表明特定蛋白质的硝基化修饰可以通过介导细胞内信号传导, 促使内皮功能障碍和高血压的发生发展。

2.3 糖尿病血管病变中酪氨酸硝基化修饰和内皮功能障碍

内皮功能障碍是1型和2型糖尿病(diabetes mellitus, DM)血管并发症的主要原因,包括微血管病变和大血管病变。高血糖可通过导致细胞氧化还原状态改变进而产生 O_2^- 等氧自由基,增加iNOS、NO表达以及ONOO⁻诱导的酪氨酸硝基化修饰。ONOO⁻可选择性地破坏DM患者的内皮细胞中的小窝蛋白,导致eNOS解偶联和NO介导的血管舒张功能下降^[27],也可以通过增强红细胞中精氨酸酶的活性损害ACh诱导的血管舒张,补充ONOO⁻清除剂四(4-磺酰苯基)卟吩氯化铁[Fe-tetrakis(4-sulfonatophenyl) porphyrinato chloride, FeTPP]可通过恢复内皮细胞功能达到有效的治疗效果^[28]。敲除脂联素可以模拟DM小鼠内皮功能障碍的表型,如对ACh的反应力下降,并伴有ONOO⁻高表达,而用FeTPP治疗可以通过下调ONOO⁻表达部分恢复内皮功能^[29]。

在DM患者高血糖的诱导下,PGIS的硝基化修饰程度显著升高,降低其催化活性,激活血栓素受体,降低了PGI₂和NO的血管保护作用,还可以导致非代谢性PGI₂的积累与血管炎症过度激活,促进血小板聚集、As斑块进展和血栓形成^[19]。26S蛋白酶体的调节颗粒PA700/S10B在DM小鼠模型中明显增加^[30],通过激活26S蛋白酶体影响GTP环水解酶I的周转,破坏内皮细胞稳态,导致ACh介导的血管舒张功能受损^[31]。DM大鼠冠状动脉中钾离子通道K_v1.2 α 亚基的硝基化修饰增加,导致电压依赖性钾通道功能障碍,引起冠状动脉内单核细胞黏附的增加^[32]。高糖还可以促进磷脂酰肌醇3激酶p85亚基硝基化,抑制其与p110亚基的结合并影响Akt活化,从而促进内皮细胞凋亡^[33]。在DM小鼠视网膜毛细血管细胞中,酪氨酸硝基化修饰的三磷酸甘油醛脱氢酶活性受到抑制,引起内皮功能障碍,加速DM视网膜病变的发生和进展^[34]。这些报道表明,特殊蛋白质的酪氨酸硝基化修饰可引发DM患者内皮功能障碍,从而导致DM相关心血管并发症的发生。因此,抑制RNS产生和下游硝基化修饰蛋白介导的效应通路可能成为预防或逆转DM心血管并发症的新途径。

2.4 其他心血管疾病的酪氨酸硝基化修饰与内皮功能障碍

缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤中

ROS/RNS过量生成后引起周细胞收缩等微血管功能障碍,导致无复流现象。抑制ROS/RNS可以缓解血管收缩,恢复血流量,从而提高组织存活率。短暂性大脑中动脉闭塞增强了内皮细胞的收缩张力,FeTPP清除ONOO⁻可抑制内皮细胞收缩张力增强^[35],提示ONOO⁻在早期缺血再灌注后内皮功能障碍中的重要作用。I/R所产生的过量ONOO⁻可使血管平滑肌细胞中F型肌动蛋白硝基化增加,从而导致肌动蛋白聚合障碍和肌源性张力的丢失。表儿茶素选择性阻断ONOO⁻的硝基化能力,并能恢复受损的肌张力^[36]。通过硝基化修饰还可以引起硫氧还蛋白1的失活,补充分解ONOO⁻的催化剂可以减弱硝基化修饰,保留其活性,从而减少I/R损伤^[37]。在缺血或I/R中诱导的硝基化修饰蛋白通常会加剧内皮功能障碍相关的血管损伤,导致组织损伤进一步加重。

在肾脏损伤患者动脉中3-NT的生成与对照组相比也显著增加。据报道,在阻塞性肾病小鼠模型中,蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)催化亚基127位的酪氨酸被硝基化修饰,促使内皮-间充质转换,补充可以穿透细胞的PP2AC衍生肽,如Y127wt和Y265wt多肽,可显著改善单侧尿道梗阻性肾病小鼠肾微血管内皮细胞向间充质转化的水平^[38],减轻肾微血管内皮功能障碍。

先兆子痫与胎盘血流量减少有关,这会限制营养物质向胎儿的输送,并导致相对缺氧或缺血的微环境,从而在胎盘和母体血管中产生ROS/RNS,引发蛋白质硝基化修饰,改变血管张力调节。孕鼠经ROS清除剂或BH₄治疗后,内皮依赖性舒张反应和ROS生成恢复正常。在子痫前期大鼠模型中使用PARP抑制剂也可显著防止内皮功能障碍和高血压,伴随3-硝基酪氨酸表达水平的降低^[39]。

在败血症患者尸检标本和大鼠盲肠结扎模型中可以观察到3-NT增加。存活的败血症大鼠产生高水平的超氧化物,增加ONOO⁻的生成,产生氧化和硝化应激环境,增加RhoA蛋白的硝基化和活性,进而增强Ang II诱导的内皮收缩反应和由此产生的长期内皮功能障碍^[40]。败血症还可使微血管内皮细胞iNOS表达升高,进而增加PP2A硝基化修饰,诱导内皮屏障功能障碍和弥散性血管内凝血^[41]。综上所述,不同的硝基化修饰蛋白质在不同心血管疾病中,通过介导内皮功能障碍,促进疾病进展(图1)。

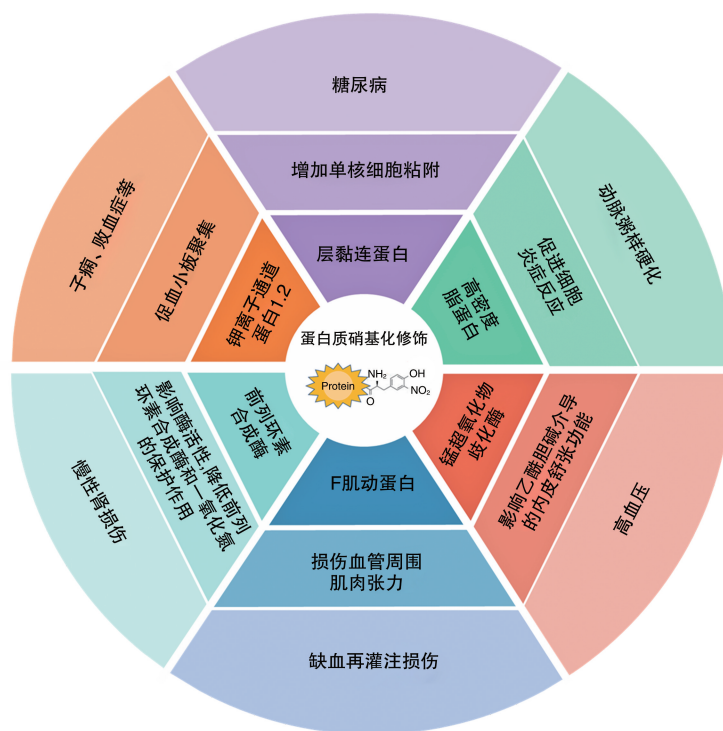


图 1. 硝基化修饰蛋白质在心血管内皮功能障碍中的作用

Figure 1. The role of nitrated modified proteins in cardiovascular endothelial dysfunction

3 抗硝化处理

由于氧化应激和内皮功能障碍在多种心血管疾病中的重要作用,抗氧化药物具有良好的治疗潜力。多种 ROS 清除剂可以通过降低 ONOO^- 的生成减少 3-NT,改善内皮功能。依地降钙醇是一种维生素 D 类似物,可通过改善去卵巢大鼠血管过氧化物酶体增殖物激活受体 γ /核因子 κB 信号转导,抑制 eNOS 解偶联而改善内皮功能障碍^[42]。叶酸治疗可以恢复二氢叶酸还原酶的表达,从而恢复受损的内皮功能,抑制糖尿病足的发生发展^[43]。 β -胡萝卜素和番茄红素等类胡萝卜素预处理可显著降低 ONOO^- 水平,维持氧化还原稳态,进而在 DM 患者中发挥血管保护作用^[44]。

抑制 ROS 生成的相关通路可以减少 ONOO^- 形成,改善 3-NT 诱导的内皮功能损伤。补充氧化型辅酶 I 中间体烟酰胺单核苷酸减少包括 3-NT 在内的氧化应激,改善内皮依赖性扩张,逆转年龄相关的动脉功能障碍^[45]。西地那非被报道在辐射诱导勃起功能障碍的治疗中产生较好的效果,通过降低 ROS 和 ONOO^- 生成抑制内皮细胞凋亡。Ang II 受体阻滞剂卡托普利在糖尿病肾血管损伤中发挥较好的抗 ROS 和 3-NT 生成作用,改善内皮通透性。阿托伐他汀和西地那非单独或联合使用可通过降低

高血压大鼠模型中 ROS 和 3-NT 水平改善内皮功能,且匹伐他汀和缬沙坦联合治疗比匹伐他汀或缬沙坦单一治疗使 ACh 诱导的 NO 生成增加更多, ONOO^- 的产生更少,表明他汀和 Ang II 受体阻滞剂联合治疗对内皮功能有附加保护作用^[46]。

通过增加血管活性分子如 NO、内皮依赖性超极化因子(endothelium-dependent hyperpolarizing factor, EDHF)等的表达与利用,也可以减少内皮功能障碍。多不饱和脂肪酸如油酸硝基衍生物可以增强 eNOS 的表达和活性,进而提高 NO 产生,从而恢复内皮功能。在高血压大鼠模型中, α -亚麻酸可增加 eNOS 的表达和活性,降低 iNOS 的活性和 ONOO^- 的生成,从而防止内皮功能障碍^[47]。二甲双胍是一种著名的抗 DM 药物,在高脂喂养的 2 型 DM 大鼠中能显著提高 NO 生物利用度和恢复内皮功能^[48]。胆总管结扎与 EDHF 介导的舒张作用减少、动脉中 ROS 和 ONOO^- 生成增加有关,但这些不良影响可通过天然有机化合物罗布麻宁或 Ang II 受体阻滞剂洛沙坦预防^[49]。

4 结论与展望

硝基化修饰的增加会损害内皮细胞,而心血管疾病时内皮功能障碍可能会增加 ROS/RNS 的表

达,进而增强 3-NT。硝基化修饰或内皮功能障碍的干扰均可改善心血管疾病,表明这两个过程相互作用,协同影响心血管疾病的进展。因此,3-NT 不仅可以作为氧化应激的标志物,而且可以作为相关心血管疾病的触发因子。但大多数 3-NT 的作用是在细胞和动物模型中观察到的,其在心血管疾病人群中的病理生理学关系尚未完全阐明,需要更多的探索来揭示机体内二者的关系。清除 ONOO⁻、抑制 ROS 产生途径以及直接增强内皮细胞功能是治疗 3-NT 相关内皮功能障碍的有效途径。有趣的是,人血清白蛋白中酪氨酸硝基化修饰的轻微升高可能通过降低低密度脂蛋白硝基化修饰来防止 As 斑块的形成和内皮功能障碍^[50]。因此,3-NT 的生成是否绝对不利于机体需要进行更多的探讨,不同的蛋白质发生硝基化修饰对机体病理生理过程的调控可能会有不同的结果,有必要进一步研究特定蛋白质的酪氨酸硝基化修饰及其在心血管疾病中的作用。

[参考文献]

- [1] CAMPOLO N, ISSOGLIO F M, ESTRIN D A, et al. 3-nitrotyrosine and related derivatives in proteins: precursors, radical intermediates and impact in function[J]. *Essays Biochem*, 2020, 64(1): 111-133.
- [2] JIANG M, ZHAO X M, JIANG Z S, et al. Protein tyrosine nitration in atherosclerotic endothelial dysfunction [J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 529: 34-41.
- [3] CAMPOLO N, MASTROGIOVANNI M, MARIOTTI M, et al. Multiple oxidative post-translational modifications of human glutamine synthetase mediate peroxynitrite-dependent enzyme inactivation and aggregation[J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(3): 102941.
- [4] 薛可, 陈帅, 王英, 等. 蛋白质硝基化修饰在组织纤维化中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(7): 553-559.
XUE K, CHEN S, WANG Y, et al. The role of protein nitration modification in tissue fibrosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(7): 553-559.
- [5] NGUYEN M C, PARK J T, JEON Y G, et al. Arginase inhibition restores peroxynitrite-induced endothelial dysfunction via L-arginine-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation [J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(6): 1329-1338.
- [6] ZHOU X P, QIAN Y, YUAN D, et al. H₂O₂-induced microvessel barrier dysfunction: the interplay between reactive oxygen species, nitric oxide, and peroxynitrite [J]. *Physiol Rep*, 2019, 7(16): 10.14814/phy2.14206.
- [7] KORKMAZ S, RADOVITS T, BARNUCZ E, et al. Dose-dependent effects of a selective phosphodiesterase-5-inhibitor on endothelial dysfunction induced by peroxynitrite in rat aorta [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 615(1/3): 155-162.
- [8] MONTI M, DONNINI S, GIACHETTI A, et al. DeltaPKC inhibition or varepsilonPKC activation repairs endothelial vascular dysfunction by regulating eNOS post-translational modification [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 48(4): 746-756.
- [9] YIN Y L, CHEN Y, REN F, et al. Nitrosative stress induced by homocysteine thiolactone drives vascular cognitive impairments via GTP cyclohydrolase 1 S-nitrosylation *in vivo* [J]. *Redox Biol*, 2022, 58: 102540.
- [10] MIHM M J, JING L, BAUER J A. Nitrotyrosine causes selective vascular endothelial dysfunction and DNA damage [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000, 36(2): 182-187.
- [11] JANASZAK-JASIECKA A, PŁOSKA A, WIEROŃSKA J M, et al. Endothelial dysfunction due to eNOS uncoupling: molecular mechanisms as potential therapeutic targets [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1): 21.
- [12] WANG Q, ZHAO T, ZHANG W, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase I mediated arginase II activation is responsible for oxidized LDL-induced endothelial dysfunction [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 882.
- [13] BONCLER M, WU Y, WATALA C. The multiple faces of C-reactive protein-physiological and pathophysiological implications in cardiovascular disease [J]. *Molecules*, 2019, 24(11): 2062.
- [14] HERRANZ B, MARQUEZ S, GUIJARRO B, et al. Integrin-linked kinase regulates vasomotor function by preventing endothelial nitric oxide synthase uncoupling: role in atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2012, 110(3): 439-449.
- [15] MACCHI C, SIRTORI C R, CORSINI A, et al. Pollution from fine particulate matter and atherosclerosis: a narrative review [J]. *Environ Int*, 2023, 175: 107923.
- [16] BHALE A S, VENKATARAMAN K. Leveraging knowledge of HDLs major protein ApoA1: structure, function, mutations, and potential therapeutics [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 154: 113634.
- [17] 赵小杰, 喻红. “失功能”HDL与动脉粥样硬化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(3): 185-191.
ZHAO X J, YU H. Dysfunctional high density lipoprotein and atherosclerosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(3): 185-191.
- [18] PAN B, YU B Q, REN H, et al. High-density lipoprotein nitration and chlorination catalyzed by myeloperoxidase impair its effect of promoting endothelial repair [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 60: 272-281.
- [19] HE C Y, CHOI H C, XIE Z L. Enhanced tyrosine nitration of prostacyclin synthase is associated with increased inflammation in atherosclerotic carotid arteries from type 2 diabetic patients [J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(5): 2542-2549.
- [20] LORENTZEN L G, CHUANG C Y, ROGOWSKA-WRZESINSKA A, et al. Identification and quantification of sites of nitration and oxidation in the key matrix protein laminin and the structural consequences of these modifications [J]. *Redox Biol*, 2019, 24: 101226.
- [21] SAURA M, MARQUEZ S, REVENTUN P, et al. Oral administration of bisphenol A induces high blood pressure through angiotensin II/CaMK II-dependent uncoupling of eNOS [J]. *FASEB J*, 2014, 28(11): 4719-4728.
- [22] GUAN X L, GUAN X Y, LU C H, et al. Nebivolol combined with tetrahydrobiopterin affects diastolic function in spontaneously hypertensive rats via the nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate signalling pathway [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2020, 21(1): 84.

- [23] WU Q, WANG H Y, LI J, et al. K-opioid receptor stimulation improves endothelial function in hypoxic pulmonary hypertension[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e60850.
- [24] MAHAJAN C N, AFOLAYAN A J, EIS A, et al. Altered prostanoid metabolism contributes to impaired angiogenesis in persistent pulmonary hypertension in a fetal lamb model[J]. *Pediatr Res*, 2015, 77(3): 455-462.
- [25] AGGARWAL S, GROSS C M, KUMAR S, et al. Attenuated vasodilatation in lambs with endogenous and exogenous activation of cGMP signaling: role of protein kinase G nitration[J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(12): 3104-3113.
- [26] LU Q, SUN X T, YEGAMBRAN M, et al. Nitration-mediated activation of the small GTPase RhoA stimulates cellular glycolysis through enhanced mitochondrial fission[J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(4): 103067.
- [27] CASSUTO J, DOU H J, CZIKORA I, et al. Peroxynitrite disrupts endothelial caveolae leading to eNOS uncoupling and diminished flow-mediated dilation in coronary arterioles of diabetic patients[J]. *Diabetes*, 2014, 63(4): 1381-1393.
- [28] MAHDI A, TENGBOM J, ALVARSSON M, et al. Red blood cell peroxynitrite causes endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus via arginase[J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1712.
- [29] CAO Y, TAO L, YUAN Y X, et al. Endothelial dysfunction in adiponectin deficiency and its mechanisms involved[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 46(3): 413-419.
- [30] XU J, WANG S X, WU Y, et al. Tyrosine nitration of PA700 activates the 26S proteasome to induce endothelial dysfunction in mice with angiotensin II-induced hypertension[J]. *Hypertension*, 2009, 54(3): 625-632.
- [31] XU J, WANG S X, ZHANG M, et al. Tyrosine nitration of PA700 links proteasome activation to endothelial dysfunction in mouse models with cardiovascular risk factors[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29649.
- [32] BUBOLZ A H, WU Q P, LARSEN B T, et al. Ebselen reduces nitration and restores voltage-gated potassium channel function in small coronary arteries of diabetic rats[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(4): H2231-H2237.
- [33] ELSHAER S L, LEMTALSI T, EL-REMESSY A B. High glucose-mediated tyrosine nitration of PI3-kinase: a molecular switch of survival and apoptosis in endothelial cells[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2018, 7(4): 47.
- [34] MADSEN-BOUTERSE S, MOHAMMAD G, KOWLURU R A. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in retinal microvasculature: implications for the development and progression of diabetic retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(3): 1765-1772.
- [35] CIPOLLA M J, SWEET J G, GOKINA N I, et al. Mechanisms of enhanced basal tone of brain parenchymal arterioles during early post-ischemic reperfusion: role of ET-1-induced peroxynitrite generation[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(10): 1486-1492.
- [36] COUCHA M, ABDELSAID M, LI W G, et al. Nox4 contributes to the hypoxia-mediated regulation of actin cytoskeleton in cerebrovascular smooth muscle[J]. *Life Sci*, 2016, 163: 46-54.
- [37] LIU Y, MA Y Z, WANG R T, et al. Advanced glycation end products accelerate ischemia/reperfusion injury through receptor of advanced end product/nitrative thioredoxin inactivation in cardiac microvascular endothelial cells[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(7): 1769-1778.
- [38] DENG Y J, CAI Y, LIU L L, et al. Blocking Tyr265 nitration of protein phosphatase 2A attenuates nitrosative stress-induced endothelial dysfunction in renal microvessels[J]. *FASEB J*, 2019, 33(3): 3718-3730.
- [39] WALSH S K, ENGLISH F A, CROCKER I P, et al. Contribution of PARP to endothelial dysfunction and hypertension in a rat model of pre-eclampsia[J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 166(7): 2109-2116.
- [40] DE SOUZA P, GUARIDO K L, SCHESCHOWITSCHEK K, et al. Impaired vascular function in sepsis-surviving rats mediated by oxidative stress and Rho-kinase pathway[J]. *Redox Biol*, 2016, 10: 140-147.
- [41] ZHOU G, KAMENOS G, PENDEM S, et al. Ascorbate protects against vascular leakage in cecal ligation and puncture-induced septic peritonitis[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2012, 302(4): R409-R416.
- [42] SERIZAWA K, YOGO K, TASHIRO Y, et al. Eldecalcitol prevents endothelial dysfunction in postmenopausal osteoporosis model rats[J]. *J Endocrinol*, 2016, 228(2): 75-84.
- [43] GAO L, YU A L, LIU J C, et al. eNOS uncoupling: a therapeutic target for ischemic foot of diabetic rat[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2019, 127(5): 303-310.
- [44] UCCI M, DI TOMO P, TRITSCHLER F, et al. Anti-inflammatory role of carotenoids in endothelial cells derived from umbilical cord of women affected by gestational diabetes mellitus[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 8184656.
- [45] DE PICCIOTTO N E, GANO L B, JOHNSON L C, et al. Nicotinamide mononucleotide supplementation reverses vascular dysfunction and oxidative stress with aging in mice[J]. *Aging Cell*, 2016, 15(3): 522-530.
- [46] IMANISHI T, IKEJIMA H, TSUJIJOKA H, et al. Combined effects of an 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor and angiotensin II receptor antagonist on nitric oxide bioavailability and atherosclerotic change in myocardial infarction-prone Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits[J]. *Hypertens Res*, 2008, 31(6): 1199-1208.
- [47] ZHANG W, FU F, TIE R, et al. Alpha-linolenic acid intake prevents endothelial dysfunction in high-fat diet-fed streptozotocin rats and underlying mechanisms[J]. *Vasa*, 2013, 42(6): 421-428.
- [48] SENA C M, MATAFOME P, LOURO T, et al. Metformin restores endothelial function in aorta of diabetic rats[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 163(2): 424-437.
- [49] DAL-ROS S, OSWALD-MAMMOSSER M, PESTRIKOVA T, et al. Losartan prevents portal hypertension-induced, redox-mediated endothelial dysfunction in the mesenteric artery in rats[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(4): 1574-1584.
- [50] TORRES-RASGADO E, FOURET G, CARBONNEAU M A, et al. Peroxynitrite mild nitration of albumin and LDL-albumin complex naturally present in plasma and tyrosine nitration rate-albumin impairs LDL nitration[J]. *Free Radic Res*, 2007, 41(3): 367-375.