

· 综述 ·

一氧化氮的心脏保护作用研究进展

阴文超 钱金桥

昆明医科大学第一附属医院麻醉科 650032

通信作者:钱金桥, Email: qianjinqiao@126.com

【摘要】 一氧化氮(nitric oxide, NO)作为体内重要的气体信号分子,对缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)心脏具有重要的保护作用。NO 通过环磷酸鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)依赖的蛋白激酶(cGMP-dependent protein kinase, PKG)以及蛋白质巯基(-SH)亚硝基化(S-亚硝基化)在心脏 I/R 过程中发挥保护作用。文章综述体内 NO 的合成及其在心脏 I/R 过程中的作用、NO 的心脏保护机制、NO 在临床心脏保护中的应用。为 NO 的心脏保护作用的进一步研究提供参考。

【关键词】 一氧化氮; S-亚硝基化; 心肌再灌注损伤; 心脏保护

基金项目: 国家自然科学基金(81460044)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2019.02.018

Research progress in cardioprotective effects of nitric oxide*Yin Wenchao, Qian Jinqiao**Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, China**Corresponding author: Qian Jinqiao, Email: qianjinqiao@126.com*

【Abstract】 As an essential gaseous signal molecule, nitric oxide (NO) has an important role in cardioprotection after ischemia/reperfusion (I/R). To provide insights for further study of NO in cardioprotection, this article reviewed the research progress on NO synthesis, its role in cardiac I/R injury, cardioprotective mechanisms, and its clinical application. The cardioprotective effects of NO in cardiac I/R may produce via the cyclic guanosine monophosphate (cGMP)/cGMP-dependent protein kinase (PKG) signaling pathway and protein S-nitrosylation. The commonly used cardioprotective measures and drugs are dependent on NO to various extents.

【Key words】 Nitric oxide; S-nitrosylation; Myocardial reperfusion injury; Cardioprotection

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81460044)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2019.02.018

一氧化氮(nitric oxide, NO)自1986年被Furchgott发现以来,就一直是器官保护领域的研究热点。以往大量的研究证实,NO在心、脑、肺、肾、血管等器官缺血以及再灌注过程中具有重要的器官保护作用^[1]。缺血导致组织细胞因缺氧以及能量供应不足而发生功能障碍甚至死亡,从而影响器官正常功能。快速、有效地恢复器官血供,虽可有效缓解缺血所导致的器官损伤,但同时也会对器官造成新的损伤即缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤。NO不仅可以通过舒张血管增加缺血器官灌注,还可通过清除氧自由基以及保护线粒体功能在I/R过程中发挥器官保护作用^[2]。

缺血性心脏病是当今全球最常见的死亡原因^[3],其治疗主要包括缺血心脏的保护以及心脏灌注及

时、有效的恢复。和机体其他器官一样,心脏I/R过程中,NO具有重要的保护作用。本文就近年来NO对心脏I/R保护作用的研究进展进行综述。

1 体内NO的合成

NO作为体内重要的气体信号分子,在体内的生成主要通过以下两条途径:①L-精氨酸在激活的一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)作用下合成NO,该途径是体内NO的主要来源;②体内亚硝酸盐被血红蛋白还原生成NO。体内的NOS包括内皮型一氧化氮合酶(endothelial NOS, eNOS)和神经元型一氧化氮合酶,以及当机体缺氧及损伤时诱导表达的诱导型一氧化氮合酶(inducible NOS, iNOS)。正常生理状态下,心血管内的NO主要由

eNOS 合成,且 eNOS 主要分布于内皮细胞内。因此心血管内皮的功能将直接影响体内 NO 的浓度。当机体因多种心血管疾病(如动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、高胆固醇血症)以及机体正常的衰老过程而导致内皮功能障碍时,心血管系统 eNOS 含量减少、活性降低,这些均可导致 NO 浓度显著降低^[4]。此外,体内精氨酸酶可与 NOS 竞争 L-精氨酸,精氨酸酶活性的改变也会对体内 NO 的浓度产生影响。由此可见,体内多种因素都可以影响 eNOS 的表达及活性,进而影响 NO 的合成,而这些因素也可能成为调节 NO 合成的靶点。

2 心脏 I/R 过程中 NO 的作用

I/R 过程中,血管内皮发生功能障碍,eNOS 含量及活性降低,NO 生物利用度降低^[5],内皮依赖性血管舒张功能降低。使用精氨酸酶抑制剂可改善因 I/R 导致的内皮功能障碍,增强内皮依耐性血管舒张功能,尤其对于既往存在动脉粥样硬化和糖尿病所致的内皮功能障碍者,精氨酸酶抑制剂的这种作用较之于内皮功能正常者显著增强^[6]。血管舒张功能的增强将有效增加缺血器官的灌注,达到器官保护的目的。最新研究发现,持续、规律的运动可减轻衰老对血管内皮功能的影响,增加血管内皮细胞耐受 I/R 损伤的能力^[7],并在心脏 I/R 过程中发挥心脏保护作用,但这种心脏保护作用在经 Triton X-100 处理引起内皮功能障碍以及使用 eNOS 阻滞剂的情况下完全消失^[8]。此外,对心肌梗死患者使用 NO 供体药物治疗,在冠状动脉阻塞解除后,心脏 I/R 损伤较未使用 NO 供体药物者减轻,患者预后改善^[9]。以上研究结果均说明 NO 在心脏 I/R 过程中具有心脏保护作用。

然而,I/R 可导致 iNOS 激活,iNOS 活性远高于 eNOS,可产生过量的 NO,引起细胞凋亡,加重心脏 I/R 损伤^[10]。由此可见,NO 对于 I/R 的心脏具有双重作用,心脏内 NO 生物利用度过高和过低均加重 I/R 损伤。在心脏 I/R 过程中,要有效发挥 NO 的心脏保护作用,就必须维持 NO 的稳态,避免其过度低于或高于生理水平。

3 I/R 过程中 NO 的心脏保护机制

NO 对 I/R 心脏的作用包括舒张冠状动脉,阻止心肌细胞线粒体通透性转换孔(mitochondrial

permeability transition pore, MPTP)的开放以及减少活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的产生^[2]。通过这些作用可有效地保护缺血心脏以及减轻 I/R 损伤,促进心脏功能恢复。NO 发挥上述心脏保护作用主要通过以下两种机制:① NO/可溶性鸟苷酸环化酶(soluble guanylyl cyclase, sGC)/环磷酸鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)/cGMP 依赖的蛋白激酶 G(cGMP-dependent protein kinase, PKG),然后通过 PKG 的功能进一步发挥作用;② NO 使含有巯基(-SH)的蛋白质发生巯基亚硝基化(S-亚硝基化),从而改变心脏 I/R 损伤相关的蛋白质的功能。

3.1 NO/sGC/cGMP/PKG

NO 通过激活 sGC 实现心脏保护的机制:活化的 sGC 通过合成 cGMP 进一步激活 PKG,最终使靶蛋白磷酸化而产生生物学效应^[11]。由此可见,PKG 是该信号途径的关键,其在心脏 I/R 过程中的作用,主要包括以下几个方面:① PKG 通过使相关蛋白磷酸化从而抑制细胞膜 Ca^{2+} 内流,促进肌质网 Ca^{2+} 摄取以及降低肌丝对 Ca^{2+} 的敏感性,使血管平滑肌松弛,血管扩张^[12]。上述作用是 NO 作为内皮源性血管舒张因子在体内最基本的作用,通过该作用可使冠状动脉舒张,增加缺血心脏灌注。② Kuno 等^[13]研究发现 PKG 可使线粒体 ATP 敏感性钾通道(mitochondrial ATP-sensitive potassium channel, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$)开放,ROS 适度合成,进而引起蛋白激酶 C 活化,最终导致再灌注损伤补救激酶激活。再灌注损伤补救激酶的活化可抑制心肌细胞 MPTP 的开放,减少心肌细胞凋亡,对于 I/R 心脏具有强大的保护作用^[14]。此外,大量研究表明, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 本身就具有很好的心肌保护作用, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 开放通过对线粒体内外 K^{+} 的调控,可抑制线粒体 Ca^{2+} 内流及 MPTP 的开放,维持线粒体结构和膜电位的稳定,减少再灌注过程中活性氧的产生,保护心肌^[15]。③ 有研究者通过对缺血后处理心脏保护作用的研究发现,心脏缺血后处理通过 PKG 抑制细胞膜 $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ 交换,延迟心脏再灌注初期心肌细胞内酸中毒的纠正,从而抑制细胞内 Ca^{2+} 超载以及 MPTP 的开放,减弱再灌注初期心肌收缩以及减少心肌细胞死亡,减轻心脏 I/R 损伤^[16]。总之,NO/sGC/cGMP/PKG 信号通路在心脏缺血以及再灌注的各个阶段都具有心脏保护作用,PKG 对不同靶蛋白

的作用决定了 NO 的最终效应。

3.2 蛋白质 S-亚硝基化

NO 可使含有巯基的蛋白质发生 S-亚硝基化,通过改变蛋白质构象调节蛋白质功能,S-亚硝基化是一种可逆性的蛋白质巯基氧化修饰,其修饰产物——SNO 比 NO 半衰期长,在一定条件下可释放 NO。早期研究发现血管内 NO 可使 Hb β -链上的半胱氨酸残基(Cys93)亚硝基化形成 SNO-Hb,且 SNO-Hb 的形成受到 Hb 氧饱和度的影响。通过上述机制,在组织缺氧的情况下,红细胞可以不依赖血管内皮细胞的功能,由 SNO-Hb 释放 NO 引起血管舒张,保护器官^[17]。然而,随后的研究证实了红细胞内存在具有活性的 eNOS,并可合成、释放具有生物活性的 NO^[18],这使得一些研究者对 SNO-Hb 来源的 NO 在心脏保护中的重要性产生了怀疑。但是,最近一项使用表达人 Hb 的小鼠进行的心脏 I/R 损伤的研究发现,Hb β Cys93 缺陷小鼠心脏损伤和病死率显著升高。这一发现不仅证实了红细胞以及 SNO-Hb 来源的 NO 在心脏保护中的重要作用,并为心脏保护的研究指出了潜在的研究方向即 Hb β Cys93 的 S-亚硝基化^[19]。上述研究结果说明了 SNO-Hb 在心脏保护中的作用,但是 SNO-Hb 最终通过释放 NO 发挥心脏保护作用,该作用是 cGMP/PKG 途径和蛋白质 S-亚硝基化共同作用的结果。

Sun 等^[20]对 Langendorff 灌注的大鼠心脏在缺血预处理后使用高选择性 sGC 阻滞剂 1H-[1,2,4]恶,二唑并[4,3-a]喹恶啉-1-酮(1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one, ODQ)阻断 sGC/cGMP/PKG 信号通路,结果观察到 ODQ 不但没有减弱缺血预处理的心脏保护作用,反而通过升高 S-亚硝基化蛋白质水平增强心脏保护作用。于是研究者得出结论,ODQ 竞争性抑制 NO 与 sGC 的结合,提高了 NO 的生物利用度,使得 S-亚硝基化蛋白质生成增加并发挥心脏保护作用。由此研究者认为至少在一些心脏保护模型中,NO 通过使蛋白质 S-亚硝基化产生心脏保护,而不依赖于激活 sGC/cGMP/PKG 信号。其实在 Sun 等的研究之前就已经有研究发现了 NO 通过使线粒体呼吸链中的复合物 I 发生 S-亚硝基化而发挥细胞保护作用^[21]。心脏 I/R 瞬间,心肌细胞恢复氧供,线粒体呼吸链迅速产生过量的 ROS,导致细胞损伤,复合物 I 的 S-亚硝基化可抑制再灌注期间复合物 I 活性的恢复,下调线粒体功能,

减少 ROS 的产生,减轻心脏再灌注损伤^[22]。

近年来,蛋白质 S-亚硝基化的心脏保护作用的研究有较大的进展。Luedike 等^[23]在体外培养的心肌细胞和小鼠 I/R 心脏模型中均发现,随着 NO 浓度的升高,巨噬细胞迁移抑制因子 S-亚硝基化水平升高,巨噬细胞迁移抑制因子的细胞保护作用增强。Soetkamp 等^[24]研究发现,NO 供体药物和缺血预处理可升高心肌线粒体连接蛋白 43(mitochondrial connexin 43, mtCx43)S-亚硝基化水平。S-亚硝基化的 mtCx43 可促进 mitoK_{ATP} 的开放和抑制 MPTP 的开放,而这恰恰是保护心脏所需要的两个重要因素。但是,该研究并未明确 mtCx43 发生 S-亚硝基化的具体位点以及仅通过 mtCx43 的 S-亚硝基化是否能达到保护心脏的目的。此外,钙激活蛋白酶作为非溶酶体 Ca²⁺依赖性半胱氨酸蛋白酶,广泛分布于体内,再灌注过程中细胞内 Ca²⁺的升高以及 Ca²⁺超载可激活钙激活蛋白酶,引起细胞内结构和功能蛋白水解,导致细胞死亡。许多研究揭示了钙激活蛋白酶在心脏 I/R 损伤中的重要作用,抑制钙激活蛋白酶活性可阻止或减轻 I/R 损伤^[25]。最新研究发现,在体外培养的心肌细胞以及在体心脏 I/R 模型中,NO 均可使钙激活蛋白酶 S-亚硝基化,抑制钙激活蛋白酶活性,减少心肌细胞损伤^[26]。NO 使蛋白质发生 S-亚硝基化不仅可存储和转运 NO,还可直接调节心脏离子通道、线粒体呼吸以及 ROS 的生成,发挥心脏保护作用。

综上所述,随着 NO 心脏保护机制研究的发展,NO 作为内皮源性血管舒张因子已不再局限于舒张冠状动脉、增加心脏灌注,而主要通过对心肌线粒体的作用减轻心肌 I/R 损伤,保护心脏。

4 NO 与临床心脏保护

4.1 NO 心脏保护作用的发现以及临床应用

早在 1867 年,药理学家 Brunton 就报道了使用硝酸甘油治疗心绞痛,但是其作用机制却始终困扰着医学家和药理学家,直至 100 多年后,NO 的发现才使谜底得以解开。NO 被发现以后,研究者就致力于 NO 心脏保护作用的研究。早期临床医师使用硝酸酯类药物,通过提高体内外源性 NO 的水平,保护缺血心脏。经典的心脏缺血预处理则通过短暂的心脏缺血诱导 eNOS 活性持续升高,并使内皮源性 NO 合成增加,在之后更长时间(超过 30 min)的缺

血以及在灌注过程中发挥心脏保护作用^[27]。缺血后处理和远端缺血预处理也是通过药物或不同措施保护以及增强 NO 介导的心脏保护作用^[28]。随着研究的深入,人们对于 eNOS/NO/sGC/cGMP/PKG 信号通路有了更加全面的认识,研究者们通过对该信号通路中不同信号物质的选择性作用(如增强 eNOS 活性的精氨酸酶抑制剂以及磷酸二酯酶抑制剂升高 cGMP 水平^[2,29])而增强 NO 介导的心脏保护作用。此外,也有一些麻醉药物通过抑制 iNOS 活性,避免因 NO 蓄积而加重心脏 I/R 损伤^[30]。总之,目前临床常用的心脏保护措施和心脏保护药物都不同程度依赖于 NO 介导的心脏保护作用。

4.2 血管内皮功能与 NO

冠状动脉血管内皮是冠状动脉的重要结构,随冠状动脉分布于整个心脏,并可分泌血管活性物质局部调节冠状动脉血流和心脏功能^[31]。通过冠状动脉内皮的功能可预测正常和非阻塞性冠状动脉疾病患者不良心血管事件发生的风险^[32]。冠状动脉内皮发生功能障碍时,将主要引起 NO 合成、分泌减少以及活性降低。因此,在治疗内皮功能障碍时,恢复内皮合成 NO 的能力是关键。运动已被证实具有良好的心脏保护作用,而该效应与其促进冠状动脉内皮合成 NO 的作用密切相关^[33]。对冠状动脉疾病患者使用精氨酸酶抑制剂可防止 I/R 期间精氨酸酶导致的内皮功能障碍,促进 NO 合成,保护心脏^[2]。总之,NO 作为血管内皮功能的最重要的评价指标,是临床治疗内皮功能障碍的重要靶点,也是血管内皮调节冠状动脉功能,发挥心脏保护作用的关键。

5 结 语

伴随着缺血性心脏病发病率和病死率的逐年升高,对于缺血心脏的保护以及 I/R 损伤的防治不仅是器官保护研究的热点,也是临床工作的重点和难点。30 年来,研究者们不仅充分肯定了 NO 在保护缺血心脏以及减轻 I/R 损伤中的重要作用,还通过对 NO 心脏保护机制的研究发现了许多可以调节 NO 心脏保护作用的潜在靶点(血管内皮、eNOS、L-精氨酸、精氨酸酶、sGC、cGMP 以及近年来发现的可通过 S-亚硝基化调节其功能的蛋白质等)。随着心脏保护研究的发展,这些潜在的靶点将

最终在临床缺血性心脏病的治疗中发挥作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rassaf T, Ferdinandy P, Schulz R. Nitrite in organ protection[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(1): 1-11. DOI:10.1111/bph.12291.
- [2] Kövamees O, Shemyakin A, Pernow J. Effect of arginase inhibition on ischemia-reperfusion injury in patients with coronary artery disease with and without diabetes mellitus [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(7): e103260. DOI:10.1371/journal.pone.0103260.
- [3] GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. Lancet, 2015, 385(9963): 117-171. DOI:10.1016/S0140-6736(14)61682-2.
- [4] Rochette L, Lorin J, Zeller M, et al. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: possible therapeutic targets?[J]. Pharmacol Ther, 2013, 140 (3): 239-257. DOI:10.1016/j.pharmthera.2013.07.004.
- [5] Baynosa RC, Naig AL, Murphy PS, et al. The effect of hyperbaric oxygen on nitric oxide synthase activity and expression in ischemia-reperfusion injury[J]. J Surg Res, 2013, 183(1): 355-361. DOI:10.1016/j.jss.2013.01.004.
- [6] Shemyakin A, Kövamees O, Rafnsson A, et al. Arginase inhibition improves endothelial function in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus [J]. Circulation, 2012, 126 (25): 2943-2950. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.140335.
- [7] Maessen MFH, van Mil ACCM, Straathof Y, et al. Impact of lifelong exercise training on endothelial ischemia-reperfusion and ischemic preconditioning in humans [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2017, 312 (5): R828-R834. DOI:10.1152/ajpregu.00466.2016.
- [8] Farah C, Nascimento A, Bolea G, et al. Key role of endothelium in the eNOS-dependent cardioprotection with exercise training[J]. J Mol Cell Cardiol, 2017, 102: 26-30. DOI:10.1016/j.yjmcc.2016.11.008.
- [9] Roberts BW, Mitchell J, Kilgannon JH, et al. Nitric oxide donor agents for the treatment of ischemia/reperfusion injury in human subjects: a systematic review [J]. Shock, 2013, 39 (3): 229-239. DOI:10.1097/SHK.0b013e31827f565b.
- [10] Zhu T, Yao Q, Wang W, et al. iNOS induces vascular endothelial cell migration and apoptosis via autophagy in ischemia/reperfusion injury[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(4): 1575-1588. DOI:10.1159/000443098.
- [11] Schulz R, Ferdinandy P. Does nitric oxide signaling differ in pre- and post-conditioning? Importance of S-nitrosylation vs. protein kinase G activation[J]. Free Radic Biol Med, 2013, 54: 113-115. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.547.

- [12] Dou D, Zheng X, Ying L, et al. Sulfhydryl-dependent dimerization and cGMP-mediated vasodilatation [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2013, 62(1): 1-5. DOI:10.1097/FJC.0b013e3182813865.
- [13] Kuno A, Solenkova NV, Solodushko V, et al. Infarct limitation by a protein kinase G activator at reperfusion in rabbit hearts is dependent on sensitizing the heart to A2b agonists by protein kinase C [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(3): H1288-H1295. DOI:10.1152/ajpheart.00209.2008.
- [14] 赵其宏, 叶英, 曾因明. 再灌注损伤补救激酶信号通路在心肌保护中的研究进展[J]. *上海医学*, 2013, 36(4): 379-382.
- [15] Zhao Z, Cui W, Zhang H, et al. Pre-treatment of a single high-dose of atorvastatin provided cardioprotection in different ischaemia/reperfusion models via activating mitochondrial K_{ATP} channel [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 751: 89-98. DOI:10.1016/j.ejphar.2015.01.036.
- [16] Inserre J, Garcia-Dorado D. The cGMP/PKG pathway as a common mediator of cardioprotection: translatability and mechanism[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172 (8): 1996-2009. DOI:10.1111/bph.12959.
- [17] Singel DJ, Stamler JS. Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin[J]. *Annu Rev Physiol*, 2005, 67: 99-145. DOI: 10.1146/annurev.physiol.67.060603.090918.
- [18] Yang J, Gonon AT, Sjöquist PO, et al. Arginase regulates red blood cell nitric oxide synthase and export of cardioprotective nitric oxide bioactivity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110 (37): 15049-15054. DOI:10.1073/pnas.1307058110.
- [19] Zhang R, Hess DT, Reynolds JD, et al. Hemoglobin S-nitrosylation plays an essential role in cardioprotection[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(12): 4654-4658. DOI:10.1172/JCI90425.
- [20] Sun J, Aponte AM, Kohr MJ, et al. Essential role of nitric oxide in acute ischemic preconditioning: S-nitrosylation versus sGC/cGMP/PKG signaling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 54: 105-112. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.005.
- [21] Sarti P, Arese M, Forte E, et al. Mitochondria and nitric oxide: chemistry and pathophysiology [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 942: 75-92. DOI:10.1007/978-94-007-2869-1_4.
- [22] Chouchani ET, Methner C, Nadtochiy SM, et al. Cardioprotection by S-nitrosation of a cysteine switch on mitochondrial complex I [J]. *Nat Med*, 2013, 19(6): 753-759. DOI:10.1038/nm.3212.
- [23] Luedike P, Hendgen-Cotta UB, Sobierajski J, et al. Cardioprotection through S-nitrosylation of macrophage migration inhibitory factor[J]. *Circulation*, 2012, 125(15): 1880-1889. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.069104.
- [24] Soetkamp D, Nguyen TT, Menazza S, et al. S-nitrosation of mitochondrial connexin 43 regulates mitochondrial function [J/OL]. *Basic Res Cardiol*, 2014, 109(5): 433. DOI:10.1007/s00395-014-0433-x.
- [25] Neuhof C, Neuhof H. Calpain system and its involvement in myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. *World J Cardiol*, 2014, 6(7): 638-652. DOI:10.4330/wjc.v6.i7.638.
- [26] Totzeck M, Korste S, Miinalainen I, et al. S-nitrosation of calpains is associated with cardioprotection in myocardial I/R injury[J]. *Nitric Oxide*, 2017, 67: 68-74. DOI:10.1016/j.niox.2017.04.003.
- [27] Csonka C, Szilvassy Z, Fülöp F, et al. Classic preconditioning decreases the harmful accumulation of nitric oxide during ischemia and reperfusion in rat hearts [J]. *Circulation*, 1999, 100(22): 2260-2266.
- [28] Andreadou I, Iliodromitis EK, Rassaf T, et al. The role of gasotransmitters NO, H_2S and CO in myocardial ischaemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning and remote conditioning [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(6): 1587-1606. DOI:10.1111/bph.12811.
- [29] Corinaldesi C, Di Luigi L, Lenzi A, et al. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: back and forward from cardiac indications[J]. *J Endocrinol Invest*, 2016, 39(2): 143-151. DOI:10.1007/s40618-015-0340-5.
- [30] Fan W, Liu Q, Zhu X, et al. Regulatory effects of anesthetics on nitric oxide [J]. *Life Sci*, 2016, 151: 76-85. DOI:10.1016/j.lfs.2016.02.094.
- [31] Yang Q, Yu CM, He GW, et al. Protection of coronary endothelial function during cardiac surgery: potential of targeting endothelial ion channels in cardioprotection [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 324364. DOI:10.1155/2014/324364.
- [32] Brainin P, Frestad D, Prescott E. The prognostic value of coronary endothelial and microvascular dysfunction in subjects with normal or non-obstructive coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Cardiol*, 2018, 254: 1-9. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.10.052.
- [33] Heaps CL, Robles JC, Sarin V, et al. Exercise training-induced adaptations in mediators of sustained endothelium-dependent coronary artery relaxation in a porcine model of ischemic heart disease[J]. *Microcirculation*, 2014, 21(5): 388-400. DOI:10.1111/micc.12116.

(本文编辑:祁寒)