

内源性一氧化氮合酶抑制剂与血管内皮功能

邹燕综述, 李向平审校

(中南大学湘雅二医院心血管内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 病理生理学; 血管内皮功能失调的发生机制; 综述; 非对称性二甲基精氨酸; 一氧化氮合酶抑制剂

[摘要] 近年来发现内源性一氧化氮合酶的竞争性抑制剂参与血管内皮功能失调的发生机制, 其中最主要的是非对称性二甲基精氨酸。因此非对称性二甲基精氨酸可能是心血管疾病的新的危险因素。血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 AT_1 受体拮抗剂 1 和血脂调节药物都可能通过抑制非对称性二甲基精氨酸而改善血管内皮功能。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

在生理和应激状态下, 内皮细胞可产生多种生物活性物质, 它们在调节血管张力、影响平滑肌细胞增殖、单核细胞粘附、血小板聚集和血栓形成以及维持正常的血管结构和功能等方面起着重要的作用, 其中内皮衍生的一氧化氮(nitric oxide, NO)是已知最重要的内源性血管舒张因子。近年来研究发现, 内源性一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)抑制剂, 如非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)和N-单甲基精氨酸(N^G -monomethylarginine, NMA), 在调节NO合成中起重要作用, 与血管内皮功能失调有关^[1]。大量研究表明, 血管内皮功能失调与心血管疾病, 尤其是动脉粥样硬化、高血压、心力衰竭的发生和发展密切相关, 是心血管事件的独立预测因子, 但血管内皮功能失调的发生机制尚未完全阐明, 本文就内源性一氧化氮合酶抑制剂与血管内皮功能的关系做一综述。由于血浆ADMA水平比NMA水平大约高10倍, 因此本文主要讨论ADMA。

1 非对称性二甲基精氨酸的代谢和调节

生物化学家很早就发现甲基化精氨酸从尿液中排泄^[1], 而Vallance等^[2]观察到肾衰患者血浆ADMA水平升高9倍, 且内皮依赖性血管舒张功能下降, 其血浆在体外可诱导血管环收缩, 该作用在加入L-精氨酸后消失, 因此他们第一次提出了内源性ADMA拮抗内皮依赖性血管舒张功能。

现在已知ADMA在人类内皮细胞合成^[3,4], 它不是从游离的L-精氨酸甲基化而来, 而是从包含甲基化精氨酸残余物的蛋白中分解而来^[5]。这些蛋白主要存在于细胞核中, 似乎与RNA的加工和转录有关, 这些蛋白水解时释放出甲基化精氨酸。有两种酶可以使精氨酸残基甲基化, 一种是蛋白精氨酸甲基转移酶iv(protein arginine methyltransferase type iv, PRMT

iv), 另一种是蛋白精氨酸甲基转移酶 $\text{I}(\text{PRMT I})$ ^[6,7]。PRMT iv使蛋白甲基化, 水解时释放ADMA和NMA; 而PRMT $\text{I}(\text{PRMT I})$ 使蛋白甲基化, 水解时释放对称性二甲基精氨酸(symmetric dimethylarginine, SDMA)和NMA。SDMA是ADMA的同分异构体, 它无生物活性, 并不抑制NOS。PRMT iv有多种类型, 可特异性地针对不同蛋白^[8]; 相反, 目前已知的PRMT $\text{I}(\text{PRMT I})$ 唯一的底物是髓磷脂碱性蛋白。

非对称性二甲基精氨酸(ADMA)和NMA的主要代谢途径是二甲基精氨酸二甲胺水解酶(dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH)^[9], 辅助途径是经肾脏的二甲基精氨酸丙酮酸转移酶或肝脏的乙酰化作用。DDAH可水解ADMA为L-瓜氨酸和二甲胺^[10]。已知DDAH有两种异构体, iv型和 $\text{I}(\text{PRMT I})$ 型, 各种类型的细胞中均可找到其中的一种或两种。DDAH iv型主要存在于表达神经型NOS的组织中, DDAH $\text{I}(\text{PRMT I})$ 型则在表达内皮型NOS的组织中占优势。甲基化精氨酸最后经肾脏排泄^[11]。

研究表明, ADMA是含胍基的L-精氨酸类似物, 它在NOS的活性部位起竞争性抑制作用, 也可能与L-精氨酸竞争被y+转运装置hCAT-2B所摄取, 而y+转运装置与内皮NOS以及内皮细胞内陷有关^[11,12]。由于L-精氨酸是NOS的底物, 故ADMA和L-精氨酸竞争与NOS的活性部位结合, 使NO的生成减少。

血浆ADMA水平正常约为1 $\mu\text{mol/L}$ 。ADMA内源性生成增加、代谢降解减少或清除下降都可以使其血浆浓度升高。在天然或氧化型低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)存在的情况下, 部分促进了PRMT的基因表达, 使内皮细胞释放ADMA增加; 蛋氨酸或半胱氨酸存在时, 通过抑制DDAH的活性^[13,14]使人类内皮细胞ADMA水平上调; 肾衰竭时, 由于肾清除率明显减低, 故血浆ADMA水平升高。而在甲基转移酶抑制剂如S-腺苷同型半胱氨酸、腺苷二醛或环亮氨酸存在的情况下, ADMA的生成减少^[15], 因此血浆ADMA水平下降。

2 非对称性二甲基精氨酸与血管内皮功能失调

[收稿日期] 2002-05-21

[修回日期] 2002-12-01

[作者简介] 邹燕, 女, 1976年出生, 广东省普宁市人, 心血管内科硕士研究生, 研究方向为冠心病的发病机制和防治。E-mail: windzou@hotmail.com。李向平, 女, 1958年出生, 广东省郁南县人, 内科教授, 硕士研究生导师, 研究方向主要为冠心病的发病机制和防治, 近年来的研究侧重于血脂、性激素和血管内皮功能与冠心病的关系, 已在国内外发表相关论文20余篇。

内皮功能失调与心血管疾病的发生和发展密切相关,已知的心血管疾病危险因素(血脂异常、高血压及糖尿病等)均在引起解剖学改变之前就可导致血管内皮功能紊乱,但这种内皮功能失调的机制尚未完全明确,ADMA 水平升高可能与内皮功能失调有关。目前认为 ADMA 抑制 NOS 活性、减少 NO 的合成可能是其致血管内皮功能失调的主要机制。

血浆 ADMA 水平与内皮功能失调的关系比血浆 LDLC 水平与内皮功能失调的关系更密切^[16]。加入 L-精氨酸可逆转血管内皮功能失调,但是输注外源性 L-精氨酸只增加 NO 合成而并不影响肾 ADMA 清除率,故提示 ADMA 可能竞争性抑制 NOS,而外源性 L-精氨酸与内源性 NOS 抑制剂 ADMA 相竞争,从而恢复 NO 合成^[16]。B¹-ger 等^[4]培养内皮细胞时发现,ADMA 可增加内皮氧化应激和单核细胞粘附,从而促进动脉粥样硬化。临床研究发现,血浆 ADMA 水平在有血管疾病危险因素的个体中通常升高 2 倍,在临床动脉粥样硬化患者中升高更加明显(可以升高 10 倍)。

高胆固醇血症的动物和人类均表现出内皮依赖性血管舒张功能减退^[17-19]。研究发现,高胆固醇血症可导致 DDAH 活性降低,继而 ADMA 积聚增加,从而使参与脂质诱导的内皮依赖性血管舒张功能失调^[14]。另一研究发现,高胆固醇血症患者 L-精氨酸/ADMA 的比值与 NO 依赖性血管舒张功能呈正相关,是内皮依赖性血管舒张功能的决定因素^[16]。而且高脂饮食也可增加血浆 ADMA 水平,其水平的增高与内皮依赖性血管舒张功能减退的程度密切相关^[20]。

高血压病在全身小动脉硬化的病理改变之前,已经出现了血管内皮依赖性舒张功能降低。给予 Dahl 盐敏感兔高盐饮食可使尿中 ADMA 的排泄增加,并使血压升高^[21];给予盐敏感高血压患者高盐饮食可增加血浆 ADMA 水平和升高血压,并降低尿中亚硝酸盐/硝酸盐(NO_x),而低盐饮食可逆转这些异常^[17]。此研究提示,由盐摄入所调节的 NOS 可能与高血压患者盐敏感机制有关,这个过程可能通过 ADMA 浓度的改变来实现。

在充血性心衰的鼠模型中发现,血浆 ADMA 水平升高导致内皮依赖性血管舒张功能减退^[22]。

糖尿病已被列为冠心病等危症。研究发现,2 型糖尿病患者血浆 ADMA 水平明显升高,并伴随内皮依赖性血管功能减退^[23],而最近有学者观察到胰岛素抵抗与血浆 ADMA 水平显著相关,并认为血浆 ADMA 水平升高可能导致胰岛素抵抗患者内皮功能失调^[24]。

另外,在球囊导管损伤血管内皮细胞后,再生的内皮细胞内 ADMA 水平较高,伴有内皮依赖性血管舒张功能减退,并且内皮功能失调的严重程度和细胞内 ADMA 水平与血管内膜损伤程度直接相关^[25,26]。

3 抑制非对称性二甲基精氨酸生成、改善血管内皮功能的药物

目前,对抑制 ADMA 生成、改善血管内皮功能的药物研究尚不完全。有研究表明,给予血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)如依那普利^[27,28]

可增加人冠状动脉流量、升高血浆 NO_x 水平以及 L-精氨酸/ADMA 比值,并改善血管内皮功能;给予血管紧张素 ϵ 受体拮抗剂 1 如依那普利^[28]也可明显降低血浆 ADMA 浓度。而有学者在动物实验中发现血脂调节药物普罗布考^[29]可明显改善血管内皮功能,该作用与 ADMA 浓度降低有关。这些药物都可能是通过抑制 ADMA 的生成而起到改善血管内皮功能的作用,但其具体机制尚不明确,有待进一步研究。

综上所述,与精氨酸同类的 ADMA 是机体调节 NO 合成的内源性机制。虽然 ADMA 浓度升高的分子机制尚未完全阐明,但是仍有充分的证据表明 ADMA 聚集是血管内皮功能紊乱的一个原因,甚至可能是心血管疾病的标志或危险因素。所以,药物调节 ADMA 浓度可能是心血管疾病的一个新的治疗目标,也需要广大医学工作者进一步去研究它的生理和病理生理作用。

[参考文献]

- [1] Kakimoto Y, Akazawa S. Isolation and identification of N^G, N^G, and N^G, N^G-dimethylarginine, N-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl-, and galactosyl- δ -hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem*, 1970, **245**: 5 751-758
- [2] Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*, 1992, **339**: 572-575
- [3] MacAllister RJ, Fickling SA, Whitley GS, Vallance P. Metabolism of methylarginines by human vasculature: implications for the regulation of nitric oxide synthesis. *Br J Pharmacol*, 1994, **11**: 43-48
- [4] B¹-ger RH, Bode-B¹-ger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **36**: 2 287-295
- [5] McDermott. Studies on the catabolism of N^G-methylarginine, N^G, N^G-dimethylarginine and N^G, N^G-dimethylarginine in the rabbit. *Biochem J*, 1976, **154**: 179-184
- [6] Ghosh SK, Paik WK, Kim S. Purification and molecular identification of two protein methylases I from calf brain: myelin basic protein- and histone-specific enzyme. *J Biol Chem*, 1988, **263**: 19 024-033
- [7] Tang J, Frankel A, Cook RJ, Kim S, Paik WK, Williams KR, et al. PRMT1 is the predominant type I protein arginine methyltransferase in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 7 723-730
- [8] Najbauer J, Johnson BA, Young AL, Aswad DW, et al. Peptides with sequences similar to glycine, arginine-rich motifs in proteins interacting with RNA are efficiently recognized by methyltransferase(s) modifying arginine in numerous proteins. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 10 501-509
- [9] Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Occurrence of a new enzyme catalyzing the direct conversion of N^G, N^G-dimethyl-L-arginine to L-citrulline in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 1987, **148**: 671-677
- [10] Kinoto M, Whitley GS, Tsun H, et al. Detection of N^G, N^G-dimethylarginine dimethylaminohydrolase in human tissues using a monoclonal antibody. *J Biochem*, 1995, **117**: 237-238
- [11] McDonald KK, Zharikov S, Block ER, Kilberg MS. A caveolar complex between the cationic amino acid transporter 1 and endothelial nitric oxide synthase may explain the 'arginine paradox'. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 31 213-216
- [12] Closs EI, Basha FZ, Habermeyer A, et al. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y⁺ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide*, 1997, **1**: 65-73
- [13] Stuhlinger MC, Tsao PS, Her JH, et al. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 2001, **104**: 2 569-575
- [14] Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 1999, **99**: 3 092-095
- [15] B¹-ger RH, Sydow K, Borlak J, et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of

- symmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res*, 2000, **87**: 99-105
- [16] Böger RH, Böger SM, Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*, 1998, **98**: 1842-847
- [17] Fujiwara N, Osanai T, Kanada T, et al. Study on the relationship between plasma nitrite and nitrate level and salt sensitivity in human hypertension: modulation of nitric oxide synthesis by salt intake. *Circulation*, 2000, **101**: 856-861
- [18] Holden D, Fickling S, Whitley G, et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 1998, **178**: 551-556
- [19] Surdacki S, Nowicki M, Sandmann J, et al. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1999, **33**: 652-658
- [20] Arcaro G, Zenere BM, Travia D, et al. Noninvasive detection of early endothelial dysfunction in hypercholesterolemic subjects. *Atherosclerosis*, 1995, **114**: 247-254
- [21] Matsuoka H, Itoh S, Kimoto M, et al. Asymmetrical dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in experimental hypertension. *Hypertension*, 1997, **29**: 242-247
- [22] Feng Q, Lu X, Fortin AJ, et al. Elevation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in experimental congestive heart failure. *Cardiovasc Res*, 1998, **37**: 667-675
- [23] Fard A, Tuck CH, Donis JA, et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **102**: 1414-419
- [24] Stuhlinger MC, Abbasi F, Chu JW, et al. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA*, 2002, **287**: 1451-452
- [25] Azuma H, Sato J, Hamasaki H, Sugimoto A, Isotani E, Obayashi S. Accumulation of endogenous inhibitors for nitric oxide synthesis and decreased content of L-arginine in regenerated endothelial cells. *Br J Pharmacol*, 1995, **115**: 1001-004
- [26] Masuda H, Goto M, Tamaoki S, Azuma H. Accelerated intimal hyperplasia and increased endogenous inhibitors for NO synthesis in rabbits with alloxan-induced hyperglycaemia. *Br J Pharmacol*, 1999, **126**: 211-218
- [27] Chen JW, Hsu NW, Wu TC, Lin SJ, Chang MS. Long-term angiotensin converting enzyme inhibition reduces plasma asymmetric dimethylarginine and improves endothelial nitric oxide bioavailability and coronary microvascular function in patients with syndrome X. *Am J Cardiol*, 2002, **90**: 974-982
- [28] Delles C, Schneider MP, John S, Gekle M, Schmieder RE. Angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II AT₁-receptor blockade reduce the levels of asymmetrical N^(G), N^(G)-dimethylarginine in human essential hypertension. *Am J Hypertens*, 2002, **15**: 590-593
- [29] Jiang JL, Li NS, Li YJ, Deng HW. Probucol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Br J Pharmacol*, 2002, **135**: 1175-182

(此文编辑 文玉珊)