

- One, 2016, 11(1), e0146818.
- [25] Hartmann P, Seebauer CT, Mazagova M, et al. Deficiency of intestinal mucin-2 protects mice from diet-induced fatty liver disease and obesity[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310(5):G310-G322.
- [26] Shang H, Sun J, Chen YQ. Clostridium butyricum CGMCC0313.1 modulates lipid profile, insulin resistance and colon homeostasis in obese mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4), e0154373.
- [27] Hu M, Lin H, Yang L, et al. Interleukin-22 restored mitochondrial damage and impaired glucose-stimulated insulin secretion through down-regulation of uncoupling protein-2 in INS-1 cells[J]. *J Biochem*, 2017, 161(5):433-439.
- [28] Herder C, Kannenberg JM, Carstensen-Kirberg M, et al. Serum levels of interleukin-22, cardiometabolic risk factors and incident type 2 diabetes: KORA F4/FF4 study[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2017, 16(1):17.
- [29] Fabbrini E, Cella M, McCartney SA, et al. Association between specific adipose tissue CD4⁺ T-cell populations and insulin resistance in obese individuals[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(2):366-374.
- [30] Dalmas E, Donath MY. A role for interleukin-22 in the alleviation of metabolic syndrome[J]. *Nat Med*, 2014, 20(12):1379-1381.

收稿日期:2019-06-25

不对称二甲基精氨酸对高原性肺动脉高压的影响

曹丽睿¹ 何庆^{1,2}

(1. 西南交通大学临床医学院, 四川 成都 610036; 2. 西南交通大学附属成都市第三人民医院, 四川 成都 610036)

【摘要】高原性肺动脉高压是高原性疾病的常见并发症。不对称二甲基精氨酸是一氧化氮合酶的抑制剂, 竞争性地抑制一氧化氮的产生, 诱发氧化应激反应, 引起血管内皮功能不全, 在高原性肺动脉高压的发生和发展中起重要作用。现从不对称二甲基精氨酸的来源、代谢及生理功能着手, 对其在高原性肺动脉高压发生和发展中的影响做一综述。

【关键词】高原性肺动脉高压; 不对称二甲基精氨酸; 作用机制

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2019.09.020

Asymmetric Dimethylarginine for High Altitude Pulmonary Hypertension

CAO Lirui¹, HE Qing^{1,2}

(1. Southwest Jiaotong University College of Medicine, Chengdu 610036, Sichuan, China; 2. Southwest Jiaotong University Affiliated Chengdu Third People's Hospital, Chengdu 610036, Sichuan, China)

【Abstract】High altitude pulmonary hypertension is a common complication of altitude diseases. Asymmetric dimethylarginine is an inhibitor of nitric oxide synthase, which competes to inhibit the production of nitric oxide, induces oxidative stress, causes vascular endothelial insufficiency, which plays an important role on the development of high altitude pulmonary hypertension. This paper starts with the origin, metabolism and physiological function of asymmetric dimethylarginine, and gives a review of its influence on the development of high altitude pulmonary hypertension in the plateau.

【Key words】High altitude pulmonary hypertension; Asymmetric dimethylarginine; Mechanism

肺动脉高压是一种进行性肺血管系统的疾病, 它的血流动力学定义为: 海平面静息状态下肺动脉平均压 ≥ 25 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 3 kPa)^[1-3]。目前研

究表明, 高原性肺动脉高压 (high altitude pulmonary hypertension, HAPH) 的发生和发展并不能以单一的病理生理学理论来解释, 而是由于包括氧化应激^[4-7]、

基金项目: 国家自然科学基金 (81501640)

通讯作者: 何庆, E-mail: kk555888@126.com

内皮细胞功能紊乱^[8]、肺小动脉收缩增加、内皮细胞和平滑肌细胞增殖^[8]以及原位血栓形成^[9]等在内的多种病理生理机制导致肺血管逐渐狭窄,最终形成了 HAPH。不对称二甲基精氨酸 (asymmetric dimethylarginine, ADMA) 是一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 的内源性抑制剂,竞争性抑制 NO 的产生,诱发氧化应激反应,引起血管内皮功能障碍,在 HAPH 的发生和发展中起重要作用。

1 ADMA 的生成与分解

ADMA 合成的原材料为精氨酸。蛋白质精氨酸甲基转移酶 (protein arginine methyltransferase, PRMT) 可以 S-腺苷-甲硫氨酸为甲基供体,合成 S-腺苷同型半胱氨酸和甲基精氨酸^[10]。精氨酸甲基化一次,就在精氨酸多肽末端氮原子连接一个甲基,称为 N-单甲基-L-精氨酸 (N-monomethyl-L-arginine, L-NMMA)。将两个甲基同时转移到精氨酸多肽末端的同一个氮原子上就形成 ADMA,若每个氮原子都连接一个甲基则称为对称性二甲基精氨酸 (SDMA)。

肝脏和肾脏是 ADMA 代谢的主要场所。二甲基精氨酸二甲胺水解酶 (DDAH) 是 ADMA 的特异性水解酶,ADMA 可在 DDAH 作用下代谢为瓜氨酸和二甲胺,之后随尿液排出^[11]。研究表明,DDAH 存在两种类型:DDAH-1 和 DDAH-2;DDAH-1 主要存在于中枢神经系统、肝、肾等组织和器官的血管内皮细胞中,是灭活体内 ADMA 的主要的酶,DDAH-2 主要存在于心、肾、胎盘等的血管平滑肌细胞和内皮细胞中。除此之外,ADMA 还可以通过乙酰化^[12]或丙氨酸-乙醛酸转氨酶 2^[13-14]进行分解代谢。最近发现,miRNA-21 也参与 ADMA 的代谢调节,miRNA-21 可上调 4-羟基壬烯醛的表达,miRNA-21 和羟基壬烯醛都可抑制 DDAH-1 的活性,使 ADMA 水平升高^[15]。

2 ADMA 与 NO 的生物学效应

NO 是内皮细胞产生的主要血管活性介质,分子量小、半衰期短且极不稳定,易透过细胞膜^[16]。NO 刺激可溶性鸟苷酸环化酶产生环磷酸鸟苷 (cGMP),cGMP 会激活 cGMP 依赖型蛋白激酶 G (PKG)^[17],而高浓度的 cGMP 作为第二信使可加强蛋白激酶的磷酸化作用,使细胞膜上的离子通道活性下降,导致血管舒张,调节血压和血流分布^[18]。

精氨酸是合成 NO 的原材料,转运体将精氨酸从细胞外转运到血管内皮细胞中,在 NOS 的作用下将 L-精氨酸分解,产生 NO 和 L-瓜氨酸,同时还能产生氧化产物^[19]。NOS 存在三种同工酶:在生理状态下表达的神经型 NOS 和内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 统称为

构型 NOS;诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 在应激状态下大量表达。非应激条件下 iNOS 主要在巨噬细胞、T 细胞等白细胞中表达,但在炎症或其他应激状态下,iNOS 在各种细胞类型中大量诱导表达。1992 年,Vallance 等^[20]就报道过 ADMA 可引起血管内皮细胞损伤,竞争性抑制 L-精氨酸与 NOS 的结合位点,减少 NO 的产生。NO 的产生受精氨酸利用度、NOS 蛋白含量、NOS 活性、NOS 辅因子四氢生物蝶呤、内源性 NOS 抑制剂 ADMA 和 L-NMMA 等因素的调控。生理情况下,细胞内精氨酸浓度远高于 ADMA,虽然会产生少量 ADMA,但对机体并无影响,这些 ADMA 通过 DDAH 分解代谢,在体内产生 NO-精氨酸-ADMA 动态平衡。NO 在病理生理条件下的生物利用度降低可能是由于 eNOS 表达降低、活性抑制或者超氧化物自由基对 NO 的早期氧化降解所致。当 ADMA 的水平过高时,ADMA 可与精氨酸竞争性抑制 eNOS 结合位点的活性,ADMA 会使 eNOS 解耦联,进而产生超氧化物,如活性氧自由基等,导致氧化应激反应,增加 PRMT 活性,抑制 DDAH 的活性,进一步升高 ADMA 水平,减少 NO 产生。此外,PRMT 活性的增加也会导致 L-NMMA 和 SDMA 水平增加。虽然血液中 L-NMMA 的浓度较低,只有 ADMA 的 1/5,但 L-NMMA 是一种非特异性的 NOS 抑制剂,可减弱 NO 的产生并增加活性氧的生成^[21]。SDMA 虽然不直接影响 eNOS 的活性,却可通过抑制阳离子氨基酸转运体,间接减弱 NOS 功能,导致 NO 的生成减少。

3 ADMA 的生理功能

N-单甲基-L-NMMA、ADMA 和 SDMA 均是 NOS 抑制剂^[20]。临床和实验研究证明,ADMA 和 SDMA 参与内皮功能障碍、氧化应激和炎症反应,可通过抑制 NO 前体物质 L-精氨酸的细胞摄取间接降低 NO 合成^[22],且是多种心血管疾病的独立危险因素,SDMA 虽然不能直接抑制 NOS 活性,但可通过抑制阳离子氨基酸转运体间接减弱 NOS 功能。ADMA 作为 NOS 的主要内源性抑制物,抑制内皮细胞产生 NO 的机制主要有以下两点:(1)ADMA 增强 NOS 的解耦联作用。NOS 解耦联后,无法催化 L-精氨酸生成 NO,同时 NOS 解耦联产生超氧阴离子、过氧亚硝酸盐等活性氧,进一步降低心血管 NO 生物利用度。(2)ADMA 作为 L-精氨酸的类似物,与 NOS 的活性结合位点竞争,抑制 NO 生成。

NO 作为血管舒张剂,可通过局部血流调控氧的输送,在中枢心血管和呼吸缺氧反应中发挥重要作用

用^[23]。由于 NO 的产生受 ADMA 和 L-NMMA 调控,因此调节 ADMA 和 L-NMMA 生物学水平的因子可以直接调节 NO 的生物利用度和心血管内皮功能。ADMA 通过两种方式调节肺细胞功能:(1)直接作用于基因表达和蛋白质功能;(2)影响 NOS 的活性改变 NO 生成。局部组织和血浆中 ADMA 水平升高能导致血管舒张功能下降,影响内皮细胞的黏附,促进动脉内膜增生。许多心血管疾病,如动脉粥样硬化、冠心病、高血压、慢性心力衰竭和糖尿病等均存在 ADMA 水平升高。实验证实,在血管内皮特异性 DDAH-1 敲除小鼠中,慢性 ADMA 和 L-NMMA 积累可以导致高血压,降低血管 NO 的生成,减少血管内皮损伤,类似于 eNOS 缺失小鼠^[24]。肾功能衰竭患者中,血浆 ADMA 水平与左室射血分数有独立的相关性^[25]。静脉注射 ADMA 可显著降低心率和心输出量,增加血压和全身血管阻力。此外,慢性输注 ADMA 还可以导致血管紧张素转换酶增加、氧化应激增加、血管及血管周围纤维化。

4 ADMA 引起 HAPH 的机制

目前,血管收缩、平滑肌细胞增殖、内皮细胞功能障碍和血栓形成被认为是 HAPH 病理生理学的三大机制^[26]。eNOS 在高原低氧环境中的表达增加,辅因子四氢生物蝶呤活性增强,但由于体内 ADMA 水平升高,竞争性地抑制 NO 生成,降低 NO 的生物利用度,仍会造成肺动脉高压。

临床及基础研究发现,ADMA 水平变化与 HAPH 密切相关,其中多数表现为 HAPH 中 ADMA 水平的增加。然而,其机制尚未阐明,推测可能与 ADMA 的产生和降解途径异常密切相关。临床研究发现,暴露于急性间歇性高原环境三个月的受试者,ADMA 和 L-NMMA 血浆浓度明显升高,而 SDMA 水平无明显变化,同样的,安第斯高原的土著居民也有很高的 ADMA 水平^[23]。高原低氧环境下,DDAH 的表达和活性降低,这也解释了 DDAH 底物 ADMA 和 L-NMMA 选择性升高的原因^[27]。在高原低氧环境中,自由基介导的体内 NO 生物利用度降低,活化的环磷酸腺苷、cGMP 进一步激活蛋白激酶 A、PKG,活化后的蛋白激酶 A、PKG 可调节与细胞增殖相关的基因表达和血管舒张以及糖原分解^[28]。PKG 活化可以松弛平滑肌细胞,降低血管阻力,增加组织的血液灌注。NO-cGMP-PKG 信号通路的减少也会损害血管生成、血管内皮细胞生长和增殖等。NO-cGMP-PKG 信号通路在维持正常血管内皮功能方面的作用已被证实,此外,NO 还可在应

激状态下,如衰老^[29]、心肌梗死、高血压和卒中等,保护心脏重构和功能障碍。eNOS 和神经元型 NOS 的保护作用很大程度上归因于 NO-cGMP-PKG 信号转导,该信号转导还可以参与心肌收缩力和心肌重构的几种蛋白靶点。

在动物模型中也证实了 ADMA 水平变化与肺动脉高压的关系。Sasaki 等^[30]发现在野百合碱诱导形成的肺动脉高压大鼠模型中,肺动脉内皮细胞中 L-精氨酸的代谢酶增加,ADMA 浓度明显高于对照组。成年小鼠暴露于缺氧环境下 3 周,取肺组织进行组织 ADMA 浓度测量,可观察到在慢性缺氧小鼠肺组织中 PRMT 的 mRNA 和蛋白质水平上调,ADMA 水平和 ADMA/L-精氨酸比值升高^[31]。氧化苦参碱可明显抑制肺 ADMA 水平升高,使肺 ADMA 正常化并减弱 PRMT 的表达上调,对 HAPH 有一定的保护作用,这种保护作用是通过调节 ADMA 代谢介导的^[32]。

然而,也有文献报道肺动脉高压对 ADMA 浓度并无明显影响。有学者发现肺动脉高压患者血浆 ADMA 水平并未随肺血流量的增加而改变,但对严重肺动脉高压的反应性增强^[33]。在严重肺动脉高压患者中,NOS 可呈现出升高、无变化和降低这三种不同的变化^[34],这些不一致的结果在某种程度上证明 ADMA 在 HAPH 调控机制中所起到的作用非常复杂,有可能与在高原环境下停留的时间和高原环境的海拔(严重程度)有关。HAPH 患者升高的血清精氨酸酶活性降低了 NO 生成所需的底物的量,这表明 HAPH 的病理生理过程涉及精氨酸代谢的改变。

5 总结

目前认为,ADMA 是 NOS 的抑制剂,能竞争性地抑制 NO 的产生,诱发氧化应激反应,引起血管内皮功能不全,NO 是高原环境中机体调节血管舒张至关重要的一个分子。尽管 ADMA/DDAH 通路失衡在不同的缺氧相关慢性呼吸系统疾病中多有报道,但关于 ADMA 在高海拔诱导的人类低压缺氧中可能发挥的作用及其与高原疾病和适应环境的关系,目前发表的资料相对较少。相信随着研究的不断深入,通过调整 ADMA/DDAH 通路、补充药物 L-精氨酸或 NO 在体内的含量可能是预防和治疗 HAPH 的有效途径之一。

参考文献

- [1] Langleben D, Orfanos S. Vasodilator responsiveness in idiopathic pulmonary arterial hypertension: identifying a distinct phenotype with distinct physiology and distinct prognosis [J]. *Pulm Circ*, 2017, 7(3):588-597.
- [2] Hoeper MM, Ghofrani HA, Grünig E, et al. Pulmonary hypertension [J]. *Dtsch*

- Arztebl Int, 2017, 114(5): 73-84.
- [3] 谭秀娟, 何庆. 高原肺动脉高压发病机制研究进展[J]. 心血管病学进展, 2018, 39(4): 674-677.
 - [4] Chen J, Wang YX, Dong MQ, et al. Reoxygenation reverses hypoxic pulmonary arterial remodeling by inducing smooth muscle cell apoptosis via reactive oxygen species-mediated mitochondrial dysfunction[J]. J Am Heart Assoc, 2017, 6(6): e005602.
 - [5] Irarrázaval S, Allard C, Campodónico J, et al. Oxidative stress in acute hypobaric hypoxia[J]. High Alt Med Biol, 2017, 18(2): 128-134.
 - [6] Strapazzon GMS, Vezzoli AEA. Oxidative stress response to acute hypobaric hypoxia and its association with indirect measurement of increased intracranial pressure: a field study[J]. Sci Rep, 2016, 6: 32426.
 - [7] 张国振, 何庆. 活性氧对高原性肺动脉高压的影响[J]. 心血管病学进展, 2018, 39(4): 576-579.
 - [8] Sun M, Ramchandran R, Chen J, et al. Smooth muscle insulin-like growth factor-I mediates hypoxia-induced pulmonary hypertension in neonatal mice[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2016, 55(6): 779-791.
 - [9] Kolb TM, Peabody J, Baddoura P, et al. Right ventricular angiogenesis is an early adaptive response to chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Microcirculation, 2015, 22(8): 724-736.
 - [10] Wu M, Lin P, Li L, et al. Reduced asymmetric dimethylarginine accumulation through inhibition of the type I protein arginine methyltransferases promotes renal fibrosis in obstructed kidneys[J]. FASEB J, 2019, 33(6): 6948-6956.
 - [11] Trittman JK, Almazroue H, Jin Y, et al. DDAH1 regulates apoptosis and angiogenesis in human fetal pulmonary microvascular endothelial cells[J]. Physiol Rep, 2019, 12(7): e14150.
 - [12] Rodionov RN, Martens-Lobenhoffer J, Briloff S, et al. Acetylation of asymmetric and symmetric dimethylarginine: an undercharacterized pathway of metabolism of endogenous methylarginines[J]. Nephrol Dial Transplant, 2016, 31(1): 57-63.
 - [13] Rodionov RN, Jarzebska N, Weiss N, et al. AGXT2: a promiscuous aminotransferase[J]. Trends Pharmacol Sci, 2014, 35(11): 575-582.
 - [14] Martens-Lobenhoffer J, Rodionov RN, Bode-Boger SM. Probing AGXT2 enzyme activity in mouse tissue by applying stable isotope-labeled asymmetric dimethyl arginine as substrate[J]. J Mass Spectrom, 2012, 47(12): 1594-1600.
 - [15] Chen L, Zhou JP, Kuang DB, et al. 4-HNE increases intracellular ADMA levels in cultured HUVECs: evidence for miR-21-dependent mechanisms[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64148.
 - [16] Luneburg N, Siques P, Brito J, et al. Long-term chronic intermittent hypobaric hypoxia in rats causes an imbalance in the asymmetric dimethylarginine/nitric oxide pathway and ROS activity: a possible synergistic mechanism for altitude pulmonary hypertension? [J]. Pulm Med, 2016, 2016: 6578578.
 - [17] Carnicer R, Crabtree MJ, Sivakumaran V, et al. Nitric oxide synthases in heart failure[J]. Antioxidants Redox Signal, 2013, 18(9): 1078-1099.
 - [18] Xuan C, Lun LM, Zhao JX, et al. L-citrulline for protection of endothelial function from ADMA-induced injury in porcine coronary artery[J]. Sci Rep, 2015, 5: 10987.
 - [19] Matsuoka H, Itoh S, Kimoto M, et al. Asymmetrical dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in experimental hypertension[J]. Hypertension, 1997, 29(1 Pt 2): 242-247.
 - [20] Vallance P, Leone A, Calver A. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthase[J]. Cardiovasc Pharmacol, 1992, 20(12): S560-S562.
 - [21] McCarty MF. Asymmetric dimethylarginine is a well established mediating risk factor for cardiovascular morbidity and mortality—should patients with elevated levels be supplemented with citrulline? [J]. Healthcare, 2016, 4(3): 40-52.
 - [22] Arlouskaya Y, Sawicka A, Glowala M, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA) concentrations in patients with obesity and the risk of obstructive sleep apnea (OSA) [J]. J Clin Med, 2019, 8(6): 897-911.
 - [23] Luneburg N, Siques P, Brito J, et al. Long-term intermittent exposure to high altitude elevates asymmetric dimethylarginine in first exposed young adults[J]. High Alt Med Biol, 2017, 18(3): 226-233.
 - [24] Hu XL, Xu X, Zhu GB, et al. Vascular endothelial-specific dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 deficient mice reveal that vascular endothelium plays an important role in removing asymmetric dimethylarginine [J]. Circulation, 2009, 120(22): 2222-2229.
 - [25] Achan V, Broadhead M, Malaki M, et al. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(8): 1455-1459.
 - [26] Kyle WB. Pulmonary hypertension associated with congenital heart disease: a practical review for the pediatric cardiologist [J]. Congenit Heart Dis, 2012, 7(6): 575-583.
 - [27] Mizuno S, Ishizaki T, Toga H, et al. Endogenous asymmetric dimethylarginine pathway in high altitude adapted yaks [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 196904.
 - [28] Ramchandran R, Raghavan A, Geenen D, et al. PKG-1 α leucine zipper domain defect increases pulmonary vascular tone: implications in hypoxic pulmonary hypertension[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2014, 307(7): L537-544.
 - [29] Li W, Mital S, Ojaimi C, et al. Premature death and age-related cardiac dysfunction in male eNOS-knockout mice [J]. Mol Cell Cardiol, 2004, 37(3): 671-680.
 - [30] Sasaki A, Doi S, Mizutani S, et al. Roles of accumulated endogenous nitric oxide synthase inhibitors, enhanced arginase activity, and attenuated nitric oxide synthase activity in endothelial cells for pulmonary hypertension in rats [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 292(6): L1480-L1487.
 - [31] Yildirim AO, Bulau P, Zakrzewicz D, et al. Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia: role of protein arginine methyltransferases [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2006, 35(4): 436-443.
 - [32] Dai G, Li B, Xu Y, et al. Oxymatrine prevents the development of monocrotaline-induced pulmonary hypertension via regulation of the NG, NG-dimethyl-L-arginine metabolism pathways in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2019, 842: 338-344.
 - [33] Fang ZF, Huang YY, Tang L, et al. Asymmetric dimethyl-L-arginine is a biomarker for disease stage and follow-up of pulmonary hypertension associated with congenital heart disease [J]. Pediatr Cardiol, 2015, 36(5): 1062-1069.
 - [34] Rafikov R, Fonseca FV, Kumar S, et al. eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity [J]. J Endocrinol, 2011, 210(3): 271-284.

收稿日期: 2019-06-25