

· 综 述 ·

ADMA/DDAH 系统与脑白质疏松症的关系

洪 铭, 范 鹰*, 宋志强

(哈尔滨医科大学附属第二医院老年医学科, 哈尔滨 150000)

【摘 要】 脑白质疏松症(LA)是深部脑小血管病变(SVD)引起的弥漫性脑缺血,可导致脑白质区神经传导纤维脱髓鞘疾病,是脑损害的一个早期标志。一氧化氮(NO)是血管内皮舒张因子,由体内的一氧化氮合酶(NOS)催化产生。非对称性二甲基精氨酸(ADMA)是NOS的内源性竞争抑制物。ADMA增加使NO生成减少,导致血管内皮功能障碍。二甲基精氨酸二甲胺水解酶(DDAH)是内源性ADMA的主要代谢酶,是决定血浆ADMA浓度的关键因素。ADMA/DDAH通路可能通过血管内皮损伤机制影响LA。

【关键词】 脑白质疏松症;一氧化氮合酶;非对称性二甲基精氨酸;二甲基精氨酸二甲胺水解酶

【中图分类号】 R742 **【文献标识码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.08.151

Association of ADMA/DDAH pathways and leukoaraiosis

HONG Ming, FAN Ying*, SONG Zhi-Qiang

(Department of Geriatrics, Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, China)

【Abstract】 Leukoaraiosis (LA) is a nerve conduction fiber demyelinating disease in the brain white matter resulted from diffuse cerebral ischemia caused by cerebral small vessel disease (SVD). It is an early sign of brain damage. Nitric oxide (NO) is an endothelium-derived relaxing factor, and its production is catalyzed by nitric oxide synthase (NOS). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an endogenous competitive inhibitor of NOS. Increase of ADMA reduces the production of NO, which then leads to vascular endothelial dysfunction. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) is a main metabolic enzyme of endogenous ADMA, and key factor determining the plasma content of ADMA. ADMA/DDAH pathway may affect LA through the mechanism of vascular endothelial damage.

【Key words】 leukoaraiosis; nitric oxide synthase; asymmetric dimethylarginine; dimethyl arginine dimethylamine hydrolase

This work was supported by the Innovative Foundation for Young Scholars from Harbin Science and Technology Bureau (2014RFQJ042).

Corresponding author: FAN Ying, E-mail: fanyingyan@163.com

脑白质疏松症(leukoaraiosis, LA)被认为是一种弥漫性脑缺血所致的神经传导纤维脱髓鞘疾病,是脑损害的一个早期标志,可导致认知能力减退,用于描述脑室周围或皮质下区脑白质在CT或MRI上的表现^[1,2]。在影像学中,LA的颅脑CT主要表现为脑室周围低密度影,颅脑MRI表现为T2加权像高信号影。脑干听觉诱发电位是一个发现脑干功能受累情况及亚临床病灶的敏感且客观的指标,可早期诊断LA^[3]。

随着CT和MRI普及,LA在中、老年人中发现率升高,并与年龄呈正相关。但目前国际上尚无对

LA的特效疗法,故研究其发生机制对预防其发生、发展具有重要意义。

1 LA与内皮功能

国外研究发现^[4],脑供血不足可导致深部小动、静脉及毛细血管发生动脉粥样硬化,造成血管的狭窄、闭塞,同时供血不足区域可发生小灶性坏死甚至弥漫性脑小血管病变(small vessel diseases, SVD),深部脑SVD可进一步引起脑白质区损害,导致脑白质病变^[5]。脉动指数(pulsatility index, PI)被广泛应用于颅内动脉硬化检查,检测血管阻力,且与

收稿日期: 2016-01-05; 修回日期: 2016-02-29

基金项目: 哈尔滨市科技局青年创新基金资助(2014RFQJ042)

通信作者: 范 鹰, E-mail: fanyingyan@163.com

脑 SVD 密切相关^[6]。Lee 等^[7]研究发现 LA 与大脑中动脉的 PI 密切相关,远端血管床阻力增大,舒张期血流速度减慢,PI 增大。LA 的严重程度随平均颈内动脉直径与大脑中动脉 PI 的增大而增大。

脑白质主要由少突胶质细胞组成,少突胶质细胞与轴突、髓鞘对缺血十分敏感,脑白质区位于边缘区域,缺乏侧支循环,因此,当发生局部循环障碍、收缩压下降等可引起脑血流量降低的因素时,很容易发生缺血缺氧性损伤^[1]。大量研究显示^[8],脑白质病变与脑血管舒缩功能有关,脑血管舒缩功能受损的患者更容易发生脑白质病变。

一氧化氮(nitric oxide, NO)具有明显而广泛的血管扩张作用,与动脉粥样硬化的形成、高血压及血管痉挛等多种病理生理过程密切相关^[8]。内皮细胞中的 NO 由 L-精氨酸和分子氧在一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化下产生。目前已知体内有 3 种 NOS:表达神经元型 NOS(neuronal NOS, nNOS)、表达内皮型 NOS(endothelial NOS, eNOS)和诱导型 NOS(inducible NOS, iNOS)^[9]。eNOS 是左旋精氨酸 NO 途径的唯一限速酶,其基因的突变可能影响 eNOS 蛋白的功能活性,从而降低体内 NO 的生成,加速动脉粥样硬化和缺血性脑血管病的发展。有报道表明^[10],诱导 NOS 在心血管反应中有相关作用,在静态条件下能调节骨骼肌收缩。在参与表观遗传改变在动脉粥样硬化的发病机制研究中,关于 NOS 表观遗传机制参与内皮功能障碍的研究最为广泛。在 NOS 表观遗传机制参与内皮功能障碍的研究中,包括 DNA 甲基化参与动脉粥样硬化的不同步骤,如血管内皮细胞增殖、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, SMC)分化、炎症途径激活。Kalimo 等^[11]研究发现,脑白质病变可能与血管内皮功能异常有关,脑白质病变患者体内活化的毛细血管基底膜(胶原-4)、缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1 α 、内皮激活细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)和小胶质细胞(CD68)等因子明显上升。

2 ADMA/DDAH 通路

1970 年,非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)及其立体异构体对称性二甲基精氨酸(symmetric dimethylarginine, SDMA)被首次从人的尿液中分离出来^[12]。ADMA 存在于人体血浆中,是在人体细胞内细胞质中发生的蛋白质修饰过程产生的代谢副产物,由 S-腺苷基蛋氨酸蛋白质 N-甲基转移酶(蛋白质甲基酶 I 及 II)催

化。1992 年 Vallance 等^[13]在伦敦首次提出 ADMA 是 NOS 的内源性竞争抑制物,能竞争性抑制 NOS 活性,减少 NO 生成,导致血管内皮功能障碍。ADMA 对 nNOS 和 eNOS 的抑制作用较强,但是对 iNOS 的抑制作用则相对较弱。

ADMA 的浓度受普通或氧化后的低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)影响。较高浓度的 LDL-C 会升高 ADMA 值,阻碍 NO 合成,进一步引起内皮功能障碍、高血压、动脉粥样硬化等一系列病理生理性改变^[13]。ADMA 清除主要通过降解代谢及肾脏排泄,降解主要通过二甲基精氨酸二甲胺水解酶(dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH)^[14]。DDAH 是内源性 ADMA 的主要代谢酶,可调节血浆 ADMA 的水平,进而影响生物可利用的 NO 的生成。目前已知 DDAH 有 2 种亚型:DDAH-1 和 DDAH-2,二者分子结构相似,但底物结合区不同。DDAH-1 定位于 1p22,主要存在于表达 nNOS 的组织中,如大脑、肾脏,DDAH-2 定位于 6p21.3,分布于心脏和胎盘,以及表达 iNOS 的免疫组织,在肾脏的分布则有选择性。DDAH 的活性在体内受多种物质的抑制,例如,活性氧、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NADPH)、同型半胱氨酸等^[15]。在研究 DDAH 基因编码区时,有研究表明 DDAH-1 和 DDAH-2 的外显子中含有 6 个高度保守的同源序列,内含子则差异较大。DDAH-2 是决定血浆 ADMA 浓度的关键因素,DDAH-2 过表达能抑制 ADMA 诱导的外周循环内皮功能失衡,提示 DDAH 可能参与心血管及脑 SVD 过程。

3 ADMA/DDAH 通路与 LA

ADMA/DDAH 通路是针对 L-精氨酸-NOS-NO 途径所提出,可能通过以下几个机制影响脑白质稀疏^[2]。

3.1 ADMA/DDAH 通路通过血管内皮损伤机制启动动脉粥样硬化

目前多数研究认为,血管内皮损伤是动脉粥样硬化发生的始动环节,而 ADMA/DDAH 通路则在血管内皮损伤机制中扮演着重要的角色。有研究在人体内静注 ADMA,发现受试者心率及心排出量显著降低,血压和全身血管阻力升高,且上述变化呈现出剂量依赖性,提示 ADMA 可通过抑制 NOS 使 NO 生成减少,影响血管舒缩活性,导致血压升高^[16]。也有实验证实人为下调内皮细胞 eNOS 蛋白表达水平后,并不能完全消除 ADMA 诱导 ROS 生成的过程。

氧化修饰的 LDL-C 能显著增加动脉内皮细胞培养液中的 ADMA 水平,且 ADMA 水平升高与 DDAH 活性降低有关^[17]。而高水平 ADMA 可能导致内皮功能障碍并加剧高胆固醇血症患者的动脉粥样硬化进展^[18]。体外实验研究表明^[19],在培养的血管内皮细胞中,ADMA 能通过另一条重要途径(激活 NADPH 氧化酶的表达)来增加 ROS 生成,继而诱导氧化应激。但国内有研究表明^[20],DDAH-2 基因 rs805305 位点 C/G 多态性和 rs2272592 位点 G/A 多态性可能与中国人群冠心病发病不相关。

在关于血浆 ADMA 水平与脑 SVD 的研究中发现^[2],ADMA 作为一个新的心脑血管疾病危险因子可能与脑白质病变具有相关性。Notsu 等^[21]在一个关于微血管病相关的脑损伤的研究中发现,经查头 MRI 证实脑损伤组的血浆 ADMA 水平高于无脑损伤组,但血总同型半胱氨酸水平无差异;在进一步调整年龄、高血压影响因素后,精氨酸与 ADMA 的比值仍然与脑损伤具有相关性,故认为精氨酸与 ADMA 的比值是脑损伤的一个独立危险因素。另有研究发现^[19],脑白质损伤患者及非脑白质损伤患者血浆中 ADMA 的水平有显著性差异,说明 ADMA 导致血管内皮损伤及血脑屏障破坏可能参与了脑白质损伤的发病过程。

3.2 ADMA/DDAH 通路与高同型半胱氨酸血症

在瑞典急性卒中的研究表明^[22],仅短暂性脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)及心源性栓塞患者外周血 ADMA 浓度升高,其他卒中亚型患者外周血 ADMA 浓度与对照组相比无明显差异。韩国老年卒中人群研究发现^[23],卒中后 ADMA 水平与同型半胱氨酸水平呈正相关。外周血同型半胱氨酸浓度 > 15 $\mu\text{mol/L}$,提示患者外周血 ADMA 水平相对较高。Khan 等^[24]研究发现,血浆同型半胱氨酸在 LA 组较无脑白质病变组明显升高,且与脑白质病变的严重程度呈正相关。代谢过程中血浆同型半胱氨酸的巯基可以发生氧化反应,产生的自由基可以损伤血管内皮细胞,导致血管内皮功能障碍、NO 分泌减少、血管舒张功能降低、脑血管灌注不足,从而引发脑白质损伤。故推测血浆同型半胱氨酸可能是脑白质病变的一个独立的危险因素,并可能与脑白质病变损伤程度密切相关。但是在 SVD 人群研究中并未发现 ADMA 水平与同型半胱氨酸水平之间的相关性^[25]。越来越多的证据表明外周血 ADMA 浓度高是卒中的高危因素,但是缺血性卒中发生后不同时间内 ADMA 发挥的作用尚未被阐明^[26]。

3.3 ADMA/DDAH 通路参与神经细胞分化

研究 DDAH 对神经细胞分化的调节时发现^[27],在神经生长因子(nerve growth factor, NGF)诱导的 PC12 神经细胞分化过程中:DDAH-1 mRNA 和蛋白表达呈时间依赖性地增加,同时 DDAH-2 mRNA 和蛋白表达逐渐降低;干扰 DDAH-1 可抑制 NGF 诱导的 PC12 神经细胞分化;过表达 rDDAH-1 可促进 PC12 神经细胞分化。因此 DDAH-1 被认为是神经损伤及修复的相关分子,可能在神经细胞分化过程中起重要作用。因此,也有推测认为,ADMA/DDAH 通路可能直接影响 LA 的神经细胞分化。

综上所述,如能证实循环血 ADMA 水平为脑白质疏松发病的预测因子,血浆 ADMA 水平将能作为脑 SVD 的独立预测指标。DDAH 表达或活性的降低在脑血管疾病的发病过程中起着介导作用,DDAH-1 具有调节循环血中 ADMA 水平的作用,DDAH-2 可保护阻力血管的内皮功能。研制以 DDAH 作为治疗靶点的生物制剂,可能为预防脑 SVD 提供新的方向。

【参考文献】

- [1] Weller RO, Hawkes CA, Kalaria RN, *et al.* White matter changes in dementia: role of impaired drainage of interstitial fluid[J]. *Brain Pathol*, 2015, 25 (1): 63-78.
- [2] Tanaka N, Katayama Y, Katayama T, *et al.* Effects of long term administration of HMG-CoA reductase inhibitor on stroke events and local cerebral blood flow in stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. *Brain Res*, 2007, 1169: 125-132.
- [3] Lawrence AJ, Patel B, Morris RG, *et al.* Mechanisms of cognitive impairment in cerebral small vessel disease: multimodal MRI results from the St George's Cognition and Neuroimaging in Stroke (SCANS) study[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61014.
- [4] Kidwell CS, El-Saden S, Livshits Z, *et al.* Transcranial Doppler pulsatility indices as a measure of diffuse small-vessel disease[J]. *J Neuroimaging*, 2001, 11(3): 229-235.
- [5] Pantoni L. Pathophysiology of age-related cerebral white matter changes[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2002, 13(Suppl 2): 7-10.
- [6] Boyaci A, Tutoglu A, Boyaci N, *et al.* Assessment of lower extremity arterial blood flow in females with knee osteoarthritis[J]. *Clin Rheumatol*, 2015, 34(2): 329-335.
- [7] Lee KY, Sohn YH, Baik JS, *et al.* Arterial pulsatility as an index of cerebral microangiopathy in diabetes [J]. *Stroke*, 2000, 31(5): 1111-1115.
- [8] Barkhof F, Scheltens P. Imaging of white matter lesions [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2002, 13(Suppl 2): 21-30.
- [9] Eider J, Ficek K, Kaczmarek M, *et al.* Endothelial nitric oxide synthase g894t (rs1799983) gene polymorphism in Polish athletes[J]. *Cent Eur J Biol*, 2014, 9 (3): 260-267.

- [10] Grimaldi V, Vietri MT, Schiano C, *et al.* Epigenetic reprogramming in atherosclerosis[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2015, 17(2): 476.
- [11] Jin HB, Yang YB, Song YL, *et al.* Lipoic acid attenuates the expression of adhesion molecules by increasing endothelial nitric-oxide synthase activity [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(1): 377-382.
- [12] Liu SJ, Zhong Y, You XY, *et al.* Insulin-like growth factor 1 opposes the effects of C-reactive protein on endothelial cell activation[J]. *Mol Cel Biochem*, 2014, 385(1-2): 199-205.
- [13] Kielstein JT, Donnerstag F, Gasper S, *et al.* ADMA increases arterial stiffness and decreases blood flow in humans[J]. *Stroke*, 2006, 37(8): 2024-2029.
- [14] Gad MZ, Hassanein SI, Abdel-Maksoud SM, *et al.* Association of DDAH2 gene polymorphism with cardiovascular disease in Egyptian patients[J]. *J Genet*, 2011, 90(1): 161-163.
- [15] Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, *et al.* Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase [J]. *Nat Struct Biol*, 2001, 8(8): 679-683.
- [16] Liu Y, He Y, Wu X, *et al.* Heparin attenuates HMGB1 expression in arterial tissue subjected to limb ischemia/reperfusion[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 176(2): 543-546.
- [17] Wang Y, Hu S, Gabisi AM Jr, *et al.* Developing an irreversible inhibitor of human DDAH-1, an enzyme upregulated in melanoma[J]. *Chem Med Chem*, 2014, 9(4): 792-797.
- [18] Demiryilmaz I, Turan MI, Kisaoglu A, *et al.* Protective effect of nimesulide against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats: effects on oxidant-antioxidants, DNA mutation and COX-1/COX-2 levels[J]. *Pharmacol Rep*, 2014, 66(4): 647-652.
- [19] Du WH, Duan JX, Peng SX. Asymmetry dimethylarginine and atherosclerosis[J]. *Pract Geriatr*, 2009, 23(3): 1003-1012. [杜万红, 段家怀, 彭世喜. 非对称性二甲基精氨酸与动脉粥样硬化[J]. *实用老年医学*, 2009, 23(3): 1003-1012.]
- [20] Su R, Bian YF, Bai R. Correlation between DDAH2 gene polymorphism and coronary heart disease[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2010, 26(6): 1080-1084. [苏锐, 边云飞, 白瑞. 二甲基精氨酸二甲基氨基酸水解酶基因多态性与冠心病的相关性研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(6): 1080-1084.]
- [21] Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke[J]. *Atherosclerosis*, 2001, 158(2): 425-430.
- [22] Wanby P, Teerlink T, Brudin L, *et al.* Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a risk marker for stroke and TIA in a Swedish population[J]. *Atherosclerosis*, 2006, 185(2): 271-277.
- [23] Wilcken DE, Wang J, Sim AS, *et al.* Asymmetric dimethylarginine in homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency: relevance of renal function[J]. *Inherit Metab Dis*, 2006, 29(1): 30-37.
- [24] Khan U, Crossly C, Karla L, *et al.* Homo-cytokine and its relationship to stroke subtypes in a UK black population: the south London ethnicity and stroke study[J]. *Stroke*, 2008, 39(11): 2943-2949.
- [25] Brouns R, Marescau B, Possemiers I, *et al.* Dimethylarginine levels in cerebrospinal fluid of hyperacute ischemic stroke patients are associated with stroke severity[J]. *Neurochem Res*, 2009, 34(9): 1642-1649.
- [26] Jin Y, Zhang CH, Wang YL. Correlation study of lipoprotein associated phospholipase A2 and asymmetric dimethylarginine with acute ischemic stroke[J]. *China Med*, 2012, 7(11): 1366-1368. [金艳, 张春和, 王艳玲. 脂蛋白相关磷脂酶A2和非对称二甲基精氨酸与急性缺血性脑卒中的相关性研究[J]. *中国医药*, 2012, 7(11): 1366-1368.]
- [27] Achan V, Tran CT, Arrigoni F, *et al.* All-trans-retinoic acid increases nitric oxide synthesis by endothelial cells; a role for the induction of dimethylarginine dimethylaminohydrolase [J]. *Circ Res*, 2002, 90(7): 764-769.

(编辑: 吕青远)