

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.11.039

· 专论与综述 ·

精氨酸及其代谢产物对缺血性脑卒中的作用*

丁涵青¹ 张颖² 韦璐瑶¹ 李紫³ 柯尊记^{1Δ}

(1 上海中医药大学中西医结合研究院 上海 201203;

2 上海徐汇区中心医院康复医学科 上海 200031; 3 中国科学院上海营养与健康研究所 上海 200031)

摘要:缺血性脑卒中是成年人群致残、致死的重要原因之一,有效治疗手段和药物的匮乏是脑卒中致残的主要原因。精氨酸既是一种营养物质,又具有多种独特的生理与药理作用,在早产儿和严重应激状态下精氨酸在维持正氮平衡与正常生理功能方面发挥重要作用,常将精氨酸称为条件必需氨基酸。精氨酸是生物体合成多胺的前体物质,同时精氨酸代谢也产生高活性自由基一氧化氮。精氨酸代谢及其代谢产物的改变可对脑卒中产生多种影响,如线粒体功能破坏、钙离子通道紊乱、血脑屏障损伤等。本文综述了精氨酸及其代谢产物在缺血性脑卒中病理过程中的作用。深入的研究和探讨其损伤和保护的双重作用机制将为缺血性脑卒中的防御和治疗提供新的策略。

关键词:缺血性脑卒中;精氨酸代谢;一氧化氮;多胺

中图分类号:R743.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)11-2179-05

Effects of Arginine and Its Metabolites in Cerebral Ischemia*

DING Han-qing¹, ZHANG Ying², WEI Lu-yao¹, LI Zi³, KE Zun-ji^{1Δ}

(1 Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai,

201203, China; 2 Department of Rehabilitation Medicine of Central Hospital of Shanghai Xuhui District, Shanghai, 200031, China; 3

Shanghai Institute of Nutrition and Health, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, 200031, China)

ABSTRACT: Cerebral ischemia is one of the important causes of disability and death among adults. The lack of effective treatment and drugs are the predominant cause of disability in Cerebral ischemia. L-arginine is not only a nutrient, but also has many unique physiological and pharmacological effects. It is an essential amino acid in preterm infants and under severe stress. It can maintain nitrogen balance and normal physiological function. Arginine is the precursor of polyamine synthesis. Arginine metabolism also produces highly reactive nitric oxide (NO). The changes of arginine metabolism and its metabolites have a variety effects in Cerebral ischemia, such as mitochondrial damage, calcium imbalance, blood brain barrier damage, etc. This review summarized the role of arginine and its metabolites in the pathological process of Cerebral ischemia. Further research and discussion of its dual functions of injury and protection will provide a new strategy for the prevention and treatment of Cerebral ischemia.

Key words: Cerebral ischemia; Arginine metabolism; Nitric oxide; Polyamine

Chinese Library Classification(CLC): R743.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)11-2179-05

前言

缺血性脑卒中(Cerebral ischemic stroke, CIS)是一种突发的由于脑部的血液循环受阻引起脑组织缺血、缺氧所导致的局限性脑组织缺血坏死或软化^[1]。在所有脑卒中类型中 CIS 占 60%~80%。脑卒中是造成我国疾病负担的主要疾病之一,它有患病率高、死亡率高、复发率高及致残率高的特点,给患病者家庭和社会带来巨大的生活压力和经济损失。随着人口老龄化不断加速,脑卒中的发病率逐年上升,《中国脑卒中防治报告》根据卒中逐年发病率上升趋势推算我国目前 40 岁以上脑卒中患病人数达到 1242 万,并且每年将有 196 万病人因脑卒中死亡^[2]。

CIS 的发病机制主要是由于动脉病变导致动脉狭窄和闭塞;或是源于心脏或近段动脉硬化脱落的栓子随着血流的流向阻塞远端小动脉,使脑供血不足阻止氧气葡萄糖充分输送。其病理特征表现为缺血核心区域血流量减少,能量及离子稳态破坏,细胞膜断裂,并在发病后短时间内细胞大量死亡,脑组织出现不可逆损伤。而围绕核心区的半暗带处于神经功能受阻和电活动中止状态但保有相对结构完整和离子平衡^[3]。虽然缺血核心区通常被认为是不可挽救的但如果及时采取有效干预手段,缺血半暗带损伤可能会得到改善。组织纤维蛋白溶酶原激活剂阿替普酶是 FDA 批准的唯一一种可用于 CIS 溶栓治疗的药物,但治疗时间窗只有 3 小时,而且溶栓后血流的恢复可能引起脑

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81973612;31271142)

作者简介:丁涵青(1983-),女,硕士研究生,主要研究方向:神经生物学,E-mail:dudu_paredise@126.com

Δ 通讯作者:柯尊记(1963-),男,博士生导师,教授,主要研究方向:神经营养科学,E-mail:kezunji@shutcm.edu.cn,电话:02151323187

(收稿日期:2020-04-28 接受日期:2020-05-23)

缺血再灌(Cerebral ischemia-reperfusion, CI/RP)损伤使临床症状进一步恶化^[4]。因此,治疗药物的研究和开发大多集中在保护缺血半暗带和限制最初损伤后的继发损伤上。精氨酸在体内具有重要生理功能参与机体营养代谢和免疫调控。天然精氨酸多以左旋精氨酸(L-Arginine, L-Arg)形式存在。它是机体多种活性物质(如肌酸、多胺、一氧化氮等)的合成前体。精氨酸也通过多种途径发挥其血管作用,如增加血管超氧化物清除能力和抑制白细胞粘附等。部分研究显示,经肠或非经肠给予精氨酸补充剂可逆转血管硬化相关的危险因素(如高血压、高胆固醇、肥胖、衰老等)引起的内皮功能障碍,从而改善动脉硬化和缺血再灌损伤^[5-7]。精氨酸代谢产物多胺及一氧化氮(Nitric oxide, NO)均被报导在缺血性脑损伤中发挥多方位的重要作用。因此,了解精氨酸在体内合成、代谢以及其代谢产物的作用并且对其合理利用,对治疗 CIS 具有重要意义。

1 机体精氨酸的来源与代谢

精氨酸分解代谢主要有两条途径:其一,精氨酸可在精氨酸酶作用下参与尿素循环合成尿素、鸟氨酸等。尿素作为此代谢途径的终产物排出体外,而鸟氨酸作为中间产物再次进入线粒体进行再一次的尿素循环,另外鸟氨酸可以合成多胺,参与调节机体细胞生长和免疫功能。精氨酸参与尿素循环使体内血氨维持平衡,血中高浓度氨转变为尿素排出体外避免氨中毒。生理情况下,血氨的来源和去路保持平衡血氨浓度相对较低,当尿素合成发生障碍后血氨浓度升高,高血氨时脑内 α -酮戊二酸减少,三羧酸循环减弱,导致能量代谢障碍,大脑功能障碍。另可能引起谷氨酸、谷氨酰胺增多,渗透压增大引起脑水肿。其二,机体精氨酸通过精氨酸/NO途径代谢,L-Arg是机体产生NO的天然底物。一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, NOS)在还原型辅酶II(Nicotinamide adenosine denucleotide hydro-phosphoric acid, NADPH)、四氢生物蝶呤等参与下可以催化L-Arg经鸟氨酸循环的NO支路,经氧化、脱氢、裂解等反应最终产生NO以及瓜氨酸。而瓜氨酸作为中间产物又参与到尿素循环的中间环节,在精氨酸代琥珀酸合酶催化下形成精氨酸代琥珀酸,再由此裂解再次形成精氨酸。因此精氨酸的两条代谢途径中存在着精氨酸-瓜氨酸循环。而代谢产物NO则是一种重要的信息小分子,在信号传导过程中起着极其重要的作用,其性质非常活泼,并可自由地跨膜扩散,非常适合在胞内以及胞间作为瞬间的信号分子。

2 精氨酸对缺血性卒中免疫调节作用

精氨酸作为一种免疫营养调节剂,强化精氨酸营养支持有利于维持机体内正氮平衡,调节蛋白质合成,提高机体免疫和抗炎功能。CIS患者常伴有免疫功能紊乱,代谢异常,营养状态恶化。脑缺血后大量氧自由基产生并堆积,胶质细胞激活聚集到缺血损伤部位吞噬死亡神经元,并分泌毒性炎症因子,分泌的趋化因子诱导外周巨噬细胞、白细胞、中性粒细胞、等免疫细胞浸润并聚集介导免疫炎症反应。精氨酸对CIS作用与缺血持续时间、缺血模型种类、精氨酸给药时间和剂量等因素有关。大多研究表明缺血后早期给予L-Arg是有益的。而延迟给予L-Arg似乎会加重缺血损伤^[8],丁俊丽等人通过对大鼠局灶性

CI/RP早期给予L-Arg治疗,观察其对大鼠脑缺血损伤后组织炎症细胞因子表达水平显示L-Arg治疗组组织白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor α , TNF- α)表达水平降低而白细胞介素-10(Interleukin-10, IL-10)表达水平增高,脑梗死体积减小,提示CI/RP早期给予精氨酸支持可能降低缺血区炎症反应^[9]。用L-Arg处理大鼠局灶性脑缺血模型研究显示L-Arg治疗减轻了缺血组织中的代谢紊乱,使缺血半暗带脑血流增加、梗死体积减少提示缺血急性期给予L-Arg可能对急性脑缺血的治疗有潜在的帮助^[9]。L-Arg对CIS免疫调节作用通过其两条主要代谢途径产生的活性代谢产物实现。而精氨酸的两条代谢途径均以精氨酸为共同底物并且通过不同机制相互制约抑制。精氨酸酶途径产生的多胺对NO合成有抑制作用;而在产生NO的过程中生成的中间体NG-羟基-L-精氨酸能抑制精氨酸酶的活性^[10,11]。

3 内源性多胺的作用

多胺是生物体内广泛存在的重要调控分子,它是指含两个以上氨基的脂肪族含氮碱(包括腐胺、精胺、精脒等)。多胺具有调控核酸、蛋白质生物合成的能力,同时参与细胞间信号转导,参与细胞的增殖分化,稳定膜与细胞器结构等多种功能。其生物合成和代谢不仅与细胞生长过程密切相关,而且与胞外刺激、胞内反应都密切相关^[12]。内源性多胺的产生起源于精氨酸。精氨酸代谢产生的鸟氨酸经过鸟氨酸脱羧酶(Ornithine decarboxylase, ODC)的作用脱羧形成腐胺,腐胺在S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶(S-adenosylmethionine decarboxylase, SAMDC)作用下进一步催化可以形成精胺、精脒。

3.1 多胺的神经毒性作用

腐胺被认为是神经细胞损伤的重要因素,腐胺参与调控神经末梢神经元膜去极化,其增加会破坏胞内 Ca^{2+} 稳态平衡,并且导致各类型的兴奋性神经递质的释放,损伤血脑屏障。在光化学诱导的小鼠脑卒中模型研究中腐胺参与N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体的调控,NMDA受体上存在多胺结合位点当多胺集聚时可与这些位点相结合调控钠钙离子通道,使 Ca^{2+} 内流导致胞内钙超载^[13,14]。ODC主要是参与多胺合成关键酶,其活性上调会直接导致腐胺的含量增加,同时ODC的活性也会对其后的多胺氧化代谢起很大影响。研究指出当CIS发生时脑内ODC的活性上调,在缺血后数小时内,细胞内腐胺水平显著升高,并持续数天,而精胺、亚精胺水平不变或降低,同时多胺氧化代谢加剧,有毒代谢产物聚集于缺血部位^[15]。ODC抑制剂二氟甲基鸟氨酸(Difluoromethylornithine, DFMO)被用于CI/RP模型中,发现DFMO可以抑制神经元坏死的进一步发展,减少脑梗死面积和血管痉挛引起的脑水肿^[16,17]。在大鼠局灶性CI/RP模型中使用DFMO可以下调ODC活性,抑制C/EBP同源蛋白(C/EBP-homologous protein, CHOP)介导的内质网应激诱导的细胞凋亡^[16]。

3.2 多胺代谢产物毒性作用

多胺功能也通过多胺间相互转化循环来实现的,腐胺经精脒、精胺合成酶催化产生精脒、精胺。精胺又经氧化酶的催化逐步降解为精脒和腐胺。参与转化的关键酶是多胺氧化酶(Polyamine oxidase, PAO)。而在转化的过程中会伴随产生代谢

中间产物如丙烯醛, 3-氨基丙醛(3-amidopropanal, 3-AP)、过氧化氢等。

CIS 患者由于 PAO 活性升高, 多胺代谢加强, 有毒代谢产物如丙烯醛、3-AP 呈现较高的水平。这些代谢产生的活性醛中间体能直接介导细胞毒性反应, 引起神经元损伤^[18]。许多研究以操纵多胺氧化代谢来改善其对 CIS 有害影响, 调节多胺代谢途径也是 CIS 治疗的潜在靶点。研究者通过使用 PAO 抑制剂来降低 PAO 活性防止多胺氧化, 阻止有毒代谢产物产生, 能有效治疗缺血性脑损伤^[19]。在大鼠大脑中动脉栓塞模型研究发现, 通过氨基胍和氯喹抑制了缺血发作后 PAO 活性减少, 有毒醛中间体产生, 能起到脑保护作用^[20]。

多胺氧化代谢产生的过氧化氢, 参与氧化应激, 引起蛋白质, 核酸和脂质过氧化, 蛋白错误折叠, 膜结构破坏, DNA 断裂, 造成缺血后的细胞不可逆氧化损伤^[18]。

多胺氧化产物 3-AP 能与细胞蛋白上的氨基和巯基相互作用, 损害它们的重要功能。例如, 在胶质细胞中, 3-AP 通过在溶酶体中积累、导致溶酶体破裂和诱导 caspase-1 依赖性信号通路的激活来介导凋亡。在神经元中, 3-AP 已被证明可损害线粒体完整性导致神经元坏死性死亡^[21]。在 Paul L. Wood^[20]的研究中添加有效的醛类诱捕剂来中和醛类物质体现出比加入氧自由基清除剂更好的神经保护作用。

脑组织缺血后多胺氧化产生的丙烯醛在细胞质中积聚, 比许多其他细胞毒性物质具有更长的半衰期, 并能通过未受损细胞的细胞膜, 引起缺血半暗带附近的正常组织受损^[18]。丙烯醛已被证明能诱导多种不同类型的平滑肌收缩, 当丙烯醛与大鼠冠状动脉或胸动脉直接接触时, 会产生高收缩, 损伤内皮细胞使血管痉挛, 造成缺血后的继发性脑损伤^[22]。另外, 丙烯醛堆积, 会导致细胞坏死。丙烯醛会引起线粒体内离子泵活性受阻, Ca^{2+} 稳态失衡, 激活微管降解的关键酶 Calpain 裂解细胞骨架, 引起线粒体功能崩溃导致神经细胞死亡^[23]。另一种机制是丙烯醛使溶酶体通透性改变, 线粒体跨膜电位崩溃诱发自噬依赖性细胞凋亡^[24]。丙烯醛可以诱导花生四烯酸代谢产生血栓素 A₂, 使血小板粘附、聚集、阻塞血管, 促进缺血后血栓的形成^[25]。

3.3 多胺的抗炎作用

有研究显示亚精胺和精胺能降低中性粒细胞浸润, 同时精胺是巨噬细胞活化的负调节因子, 可与巨噬细胞结合, 抑制机体的天然免疫反应。外源性精胺刺激能降低脂多糖刺激的小鼠巨噬细胞中 NO₂⁻ 和炎症因子 TNF- α 、白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 的水平^[26]。

4 一氧化氮在缺血性脑卒中作用

4.1 NO 保护作用

在 CIS 发生早期, 由 eNOS 催化产生少量 NO 表现为对缺血性损伤具有一定保护作用^[28-31]。脑缺血时容易发生血管收缩和血管痉挛, NO 通过刺激可溶性鸟苷酸环化酶和增加平滑肌细胞的环磷酸鸟苷 (Cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 抑制平滑肌细胞 DNA 合成、有丝分裂和增殖。内皮细胞和硝酸能神经释放的 NO 作为一种主要的内源性血管舒张剂, 它可以平衡来自交感神经系统和血管紧张素产生的血管收缩^[32]。外源性 L-精氨酸, 通过增加 eNOS 活性改善大鼠实验性脑出血后

的血管痉挛^[33]。而用抑制性 L-Arg 类似物阻断 NO 合成可导致显著的外周血管收缩和血压升高。运用羧甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂他汀类药物降低 CI/RP 损伤, 其能够激活磷脂酰肌醇-3 激酶 / 丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶 (Phosphatidylinositol-3-kinases/Protein-serine-threonine kinase, PI3K/Akt) 信号通路, 增强 eNOS 活性, 从而增加保护性 NO 产生, 减轻内质网应激诱导的细胞凋亡, 同时 PI3K/Akt 信号通路也被证明可以动员血管内皮祖细胞归巢和迁移, 修复 CI/RP 后神经损伤^[34,35]。血管腔内释放的 NO 是血小板聚集和血管壁黏连的有效抑制剂^[36]。NO 也可以通过干扰白细胞粘附分子 CD11、CD18 的表达来阻止粘附分子与血管内皮形成粘附结构^[37,38]。由于白细胞粘附是动脉粥样硬化发生的早期事件, 因此 NO 可以延迟动脉粥样硬化的发生^[39]。

4.2 NO 毒性作用

NO 发挥保护作用的同时更多的研究显示其在 CIS 中的毒性作用。随着缺血进程不断发展, 大量胶质细胞、巨噬细胞被激活, 诱导 iNOS 表达产生大量 NO。高浓度的 NO 可引起炎症、细胞死亡、血脑屏障通透性增高和梗死灶扩大等^[40-43]。脑组织缺血后抗氧化能力降低, 超氧化物歧化酶活性下降, 过量自由基积累, 导致脑组织极易受到氧化损伤。在缺血脑组织中由于 NO 和超氧离子 O₂⁻ 同时产生, 两者迅速反应形成过氧亚硝酸盐, 过氧亚硝酸盐比其前体更为活跃, 具有更高的细胞毒性。同时过氧亚硝酸盐可进一步分解产生其他细胞毒性反应物, 如二氧化氮 (NO₂)、三氧化二氮 (N₂O₃) 和过氧亚硝酸 (ONOOH)。过氧亚硝酸盐也被认为是 NO 产生细胞毒性的关键途径^[44,45]。

Jinghan Feng^[46]研究证明过氧亚硝酸盐可以通过损伤线粒体的动力相关蛋白 1 (Dynamin-related protein 1, Drp1) 募集来诱导 PINK1/Parkin 介导的有丝分裂, 从而导致 CI/RP 损伤。过氧亚硝酸盐分解催化剂能显著逆转 Drp1 的募集和有丝分裂的活化。

NO 生成的过氧亚硝酸盐可以促使 eNOS 解偶联作用, 而 eNOS 解偶联促使毒性活性氧自由基释放, 两者形成恶性循环, 增加微血管通透性增大, 造成血栓形成和细胞水肿^[47]。

近来许多研究 NO 对缺血性脑损伤的机制也聚焦于 NO 对血脑屏障的破坏上。血脑屏障由微血管内皮细胞、星形胶质细胞末梢和细胞外基质组成。内皮细胞被基底膜包围, 内皮细胞间由紧密连接蛋白连接成一张致密的网。基底膜是细胞外基质的一层, 主要作用是连接内皮细胞与星形胶质细胞, 并负责它们之间的信息转导^[48]。基底膜以及内皮细胞间的紧密连接蛋白是维持血脑屏障完整性的关键。基质金属蛋白酶家族 (Matrix metalloproteinase family, MMPs) 的激活可介导基底膜的降解, 溶解其组分, 诱导星形胶质细胞和内皮细胞分离, 微血管塌陷, 导致血脑屏障渗漏。积累的证据表明 NO 产生的过氧亚硝酸盐能通过激活 MMPs, 介导内皮细胞紧密蛋白降解, 改变血脑屏障通透性诱发脑水肿。内皮细胞间的紧密连接蛋白对基质金属蛋白酶 9 (Matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 活性敏感, 小鼠 CIS 模型中缺血引起的水肿可能是 MMP-9 依赖的紧密连接蛋白重排介导的, MMP-9 基因敲除小鼠显示血脑屏障通透性和脑水肿程度低于野生型小鼠。在小鼠 CI/RP 模型中运用 NOS 抑制剂 NG-硝基-L-精氨酸 (NG-nitro-L-arginine, L-NA)

治疗,可以显著抑制 MMP-9 的表达,降低酪氨酸硝化,减少了梗死体积。研究显示,急性 CIS 患者 MMP-9 水平显著高于健康对照,MMP-9 的升高与梗死体积的增大、卒中的严重程度和功能预后的恶化密切相关,MMP-9 也可能成为溶栓治疗患者的脑出血发生预测因子。

5 小结与展望

综上所述,本文阐述了精氨酸代谢的过程,并总结了精氨酸两条代谢途径所产生的的代谢产物(多胺、NO)在 CIS 中的作用。精氨酸及其代谢产物渗透在 CIS 后多种病理机制中。由于其参与损伤和保护的双重作用,把握其在 CIS 中的作用的时间点,靶细胞,以及剂量是研究精氨酸对于 CIS 后神经损伤作用的关键。进一步探究精氨酸的两条代谢通路互为依存,互为竞争的关系,争取充分发挥他们各自的神经保护作用,这将为 CIS 中的治疗和恢复提供新的思路。

参考文献(References)

- [1] Benjamin E J, Paul M, Alvaro A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-e528
- [2] 王陇德, 刘建民, 杨弋, 等. 我国脑卒中防治仍面临巨大挑战 -- 《中国脑卒中防治报告 2018》概要 [J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(02): 6-20
- [3] Radak D, Katsiki N, Resanovic I, et al. Apoptosis and acute brain ischemia in ischemic stroke [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2017, 15(2): 115-122
- [4] Furie K L, Mahesh V. Jayaraman 2018 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2018, 49(3): 509-510
- [5] Harston G W, Sutherland B A, Kennedy J, et al. The contribution of L-arginine to the neurotoxicity of recombinant tissue plasminogen activator following cerebral ischemia: a review of rtPA neurotoxicity [J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30(11): 1804-1816
- [6] Melik Z, Zaletel P, Virtic T, et al. L-arginine as dietary supplement for improving microvascular function [J]. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 2017, 65(3): 205-217
- [7] Menzel D, Haller H, Wilhelm M, et al. L-Arginine and B vitamins improve endothelial function in subjects with mild to moderate blood pressure elevation [J]. *European Journal of Nutrition*, 2018, 57(2): 557-568
- [8] 丁俊丽, 贺捷, 缴克华, 等. L-精氨酸对大鼠局灶性脑缺血再灌注早期炎症损伤研究[J]. *标记免疫分析与临床*, 2014, 21(6): 715-717
- [9] He Z, Ibayashi S, Nagao T, et al. L-Arginine ameliorates cerebral blood flow and metabolism and decreases infarct volume in rats with cerebral ischemia[J]. *Brain Research*, 1995, 699(2): 208-213
- [10] Satriano J. Arginine pathways and the inflammatory response: interregulation of nitric oxide and polyamines: review article [J]. *Amino Acids*, 2004, 26(4): 321-329
- [11] Morris S M. Arginine Metabolism Revisited [J]. *The Journal of Nutrition*, 2016, 146(12): 2579S-2586S
- [12] Bae D H, Lane D J R, Jansson P J, et al. The old and new biochemistry of polyamines[J]. *Biochimica Biophysica Acta-General Subjects*, 2018, 1862(9): 2053-2068
- [13] Nakamura M, Uemura T, Saiki R, et al. Toxic acrolein production due to Ca²⁺ influx by the NMDA receptor during stroke [J]. *Atherosclerosis*, 2016, 244(1): 131-137
- [14] Hirose T, Saiki R, Yoshizawa Y, et al. Spermidine and Ca²⁺, but not Na⁺, can permeate NMDA receptors consisting of GluN1 and GluN2A or GluN2B in the presence of Mg²⁺[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 463(4): 1190-1195
- [15] Tomitori H, Usui T, Saeki N, et al. Polyamine oxidase and acrolein as novel biochemical markers for diagnosis of cerebral stroke[J]. *Stroke*, 2005, 36(12): 2609-2613
- [16] Ding L, Ba X H. Role of ornithine decarboxylase/polyamine pathway in focal cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanism in rats [J]. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2015, 8(11): 20624-20630
- [17] Wan X, Jiang B, Liu Y S, et al. Effect of alpha-difluoromethylornithine on the expression of ODC mRNA in the cortex and hippocampus in rats after cerebral ischemia reperfusion[J]. *Journal of Central South University. Medical Sciences*, 2005, 30(5): 579-582
- [18] Liu J H, Wang T W, Lin Y Y, et al. Acrolein is involved in ischemic stroke-induced neurotoxicity through spermidine/spermine-N1-acetyltransferase activation [J]. *Experimental Neurology*, 2020, 323(1): 113066
- [19] Wood P L, Khan M A, Kulow S R, et al. Neurotoxicity of reactive aldehydes: the concept of "aldehyde load" as demonstrated by neuroprotection with hydroxylamines[J]. *Brain Research*, 2006, 1095(1): 190-199
- [20] Ivanova S, Botchkina G I, Al-Abed Y, et al. Cerebral ischemia enhances polyamine oxidation: identification of enzymatically formed 3-aminopropanal as an endogenous mediator of neuronal and glial cell death [J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 1998, 188(2): 327-340
- [21] Yu Z Q, Li W, Brunk U T. 3-Aminopropanal is a lysosomotropic aldehyde that causes oxidative stress and apoptosis by rupturing lysosomes [J]. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 2003, 111(6): 643-652
- [22] Conklin D J, Boyce C L, Trent M B, et al. Amine metabolism: a novel path to coronary artery vasospasm [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2001, 175(2): 149-159
- [23] Igarashi K, Uemura T, Kashiwagi K. Acrolein toxicity at advanced age: present and future[J]. *Amino Acids*, 2018, 50(2): 217-228
- [24] Luo S S, Jiang L P, Li Q N, et al. Acrolein-induced autophagy-dependent apoptosis via activation of the lysosomal-mitochondrial pathway in EAhy926 cells [J]. *Toxicology in Vitro*, 2018, 52(10): 146-153
- [25] Saiki R, Hayashi D, Ikuo Y, et al. Acrolein stimulates the synthesis of IL-6 and C-reactive protein (CRP) in thrombosis model mice and cultured cells[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2013, 127(5): 652-659
- [26] Zhang M, Wang H, Tracey K J. Regulation of macrophage activation and inflammation by spermine: a new chapter in an old story [J]. *Critical Care Medicine*, 2000, 28(4): N60-N66
- [27] Förstermann U, Sessa W C. Nitric oxide synthases: regulation and function[J]. *European Heart Journal*, 2012, 33(7): 829-837

- [28] Stuehr D J, Haque M M. Nitric oxide synthase enzymology in the 20 years after the Nobel Prize[J]. British Journal of Pharmacology, 2019, 176(2): 177-188
- [29] Förstermann U, Closs E I, Pollock J S, et al. Nitric oxide synthase isozymes. characterization, purification, molecular cloning, and functions[J]. Hypertension, 1994, 23(6 Pt 2): 1121-1131
- [30] Hendrix P, Foreman P M, Harrigan M R, et al. Endothelial nitric oxide synthase polymorphism is associated with delayed cerebral ischemia following aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. World Neurosurgery, 2017, 101(5): 514-519
- [31] Daneshmandi N, Smeda J S. Alterations in the modulation of cerebrovascular tone and blood flow by nitric oxide synthases in SHRsp with stroke[J]. Cardiovascular Research, 2010, 86(1): 160-168
- [32] Evora P R B. G-proteins agonists and NO/cGMP blockers: unexplored frontiers in the pharmaceutical industry [J]. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2017, 109(4): 275-276
- [33] Akar E, Emon S T, Uslu S, et al. Effect of L-arginine therapy on vasospasm: experimental study in rats[J]. World Neurosurgery, 2019, 132(12): e443-e446
- [34] Everaert B R, Van-Craenenbroeck E M, Hoymans V Y, et al. Current perspective of pathophysiological and interventional effects on endothelial progenitor cell biology: focus on PI3K/AKT/eNOS pathway [J]. International Journal of Cardiology, 2010, 144 (3): 350-366
- [35] Peng B, Guo Q L, He Z J, et al. Remote ischemic postconditioning protects the brain from global cerebral ischemia/reperfusion injury by up-regulating endothelial nitric oxide synthase through the PI3K/Akt pathway[J]. Brain Research, 2012, 1445(4): 92-102
- [36] Greco R, Demartini C, Zanaboni A M, et al. Endothelial nitric oxide synthase inhibition triggers inflammatory responses in the brain of male rats exposed to ischemia-reperfusion injury [J]. Journal of Neuroscience Research, 2018, 96(1): 151-159
- [37] Kubes P, Suzuki M, Granger D N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1991, 88(11): 4651-4655
- [38] Meng X L, Zhang D L, Sui S H. Acute remote ischemic preconditioning alleviates free radical injury and inflammatory response in cerebral ischemia/reperfusion rats [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2019, 18(3): 1953-1960
- [39] Hong F F, Liang X Y, Liu W, et al. Roles of eNOS in atherosclerosis treatment[J]. Inflammation research, 2019, 68(6): 429-441
- [40] 张盼, 闫伟杰, 肇玉明. 活性氮在缺血性脑中风中的作用研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2017, 044(5): 398-406
- [41] Szabó C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics [J]. Nature reviews Drug discovery, 2007, 6(8): 662-680
- [42] Chen H, Chen X, Luo Y H, et al. Potential molecular targets of peroxynitrite in mediating blood-brain barrier damage and haemorrhagic transformation in acute ischaemic stroke with delayed tissue plasminogen activator treatment[J]. Free radical research, 2018, 52(11-12): 1220-1239
- [43] Bartsaghi S, Radi R. Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration [J]. Redox biology, 2018, 14(4): 618-625
- [44] Dawson T M, Dawson L V. Nitric Oxide Signaling in Neurodegeneration and Cell Death [J]. Advances in pharmacology, 2018, 82(5): 57-83
- [45] Han F, Chen Y X, Lu Y M, et al. Regulation of the ischemia-induced autophagy-lysosome processes by nitrosative stress in endothelial cells[J]. Journal of pineal research, 2011, 51(1): 124-135
- [46] Feng J H, Chen X M, Guan B H, et al. Inhibition of Peroxynitrite-Induced Mitophagy Activation Attenuates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury[J]. Molecular neurobiology, 2018, 55(8): 6369-6386
- [47] Förstermann U, Li H. Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling[J]. British journal of pharmacology, 2011, 164(2): 213-223
- [48] Sweeney M D, Zhao Z, Montagne A, et al. Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back [J]. Physiological reviews, 2019, 99 (1): 21-78