

ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN ve KLİNİK ÖNEMİ

Sami ERDEM, Ali ÜNLÜ

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, KONYA

Asimetrik dimetil arginin (ADMA) endojen Nitrik Oksit sentaz inhibitörüdür. Lokal Nitrik Oksit (NO) sentezini engelleyerek vazospazma ve endotel disfonksiyonuna neden olmakta ve koroner arter hastalık gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bu makalede ADMA sentezi, yıkımı, çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik olaylardaki düzeyi ve klinik kullanım alanları irdelenecektir. Ateroskleroz gelişim süreci kompleks bir süreçtir ve multifaktöryel nedenlere dayanmaktadır. Artmış kan basıncı etyolojisinde, NO sentezindeki azalma ile seyreden vazokonstriksiyon önemli rol oynamaktadır. Yine endotel disfonksiyonunda azalmış NO düzeyleri önemli etkilere sahiptir. Endotel disfonksiyonu kronik bir süreç sonucu gelişmekte ve bu sürece katkıda bulunan parametreler önemli risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. NO sentezini azaltan ADMA'nın endojen bir inhibitör molekül oluşu son zamanlarda ADMA üzerine olan çalışmaları yoğunlaştırmıştır. Yüksek ADMA düzeylerinin renal hastalıklarla, preeklampsi, Alzheimer, siroz, cor pulmonale ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Endotel disfonksiyonunun önemli nedenlerinden biri olan ADMA düzeylerini azaltmaya yönelik stratejiler, ilgili hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımlara yol açabilir.

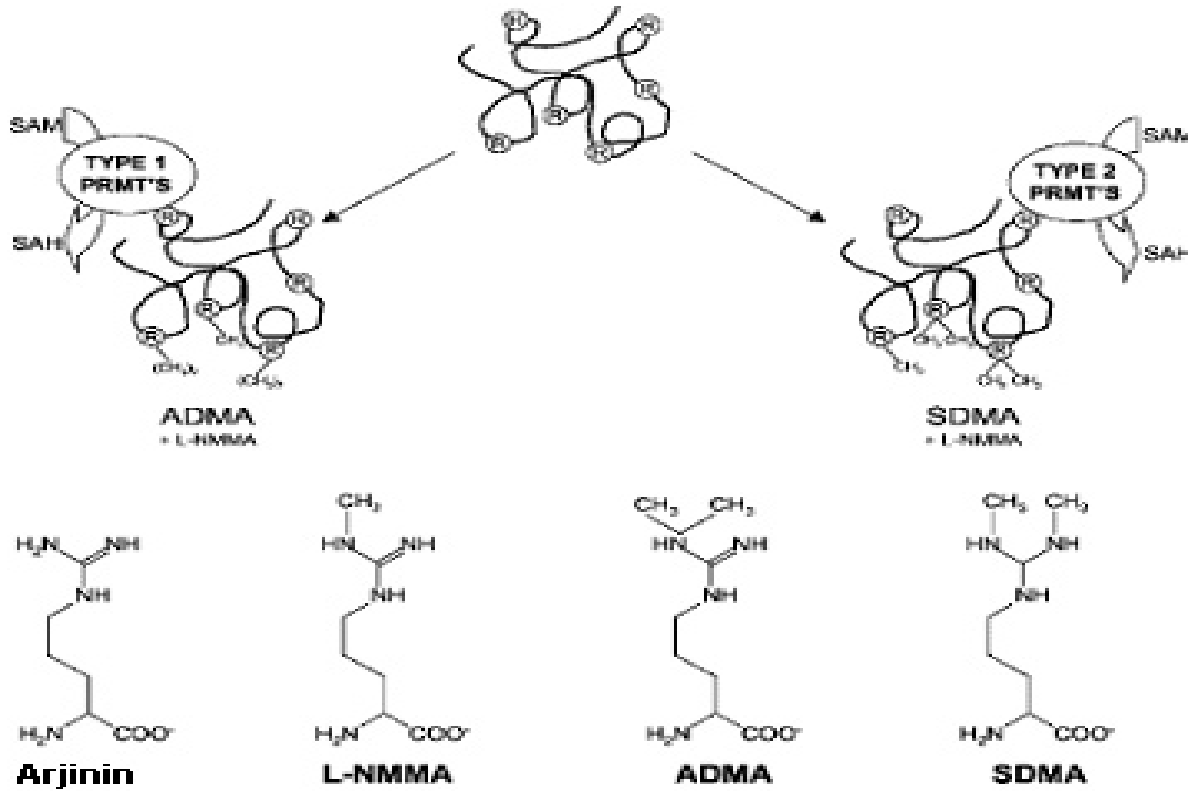
Anahtar kelimeler: Asimetrik dimetil arginin, NO

Selçuk Tıp Derg 2009;25 (2):107-115

ASYMMETRIC DIMETHYL ARGININE AND ITS CLINICAL IMPLICATION

Asymmetric Dimethyl Arginine (ADMA) is an endogenous inhibitor of nitric oxide (NO) synthase and causes local vasospasm and endothelial dysfunction by inhibiting local NO production. Therefore ADMA is evaluated as a secondary risk factor for coronary artery disease. This article will review; a) ADMA synthesis and catabolism, b) relationship of ADMA with various physiological and pathophysiological conditions and c) clinical application areas. Atherosclerosis development is a complex process and endothelial dysfunction plays a crucial role in patients with coronary atherosclerosis. Elevated endogenous NO synthase inhibitor ADMA levels represent a novel risk factor for the development of endothelial dysfunction. Elevated plasma ADMA levels have been demonstrated in patients with coronary artery disease, hypertension, cor pulmonale, stroke, renal failure, alzheimer and hyperhomocysteinemia. Strategies to reduce plasma ADMA levels may be a new approach in therapeutic applications in endothelial dysfunction-related disease.

Key words: Asymmetric Dimethyl Arginine, NO



Şekil 1: Arjininin metillenmiş formlarının sentezi ve formları (4).

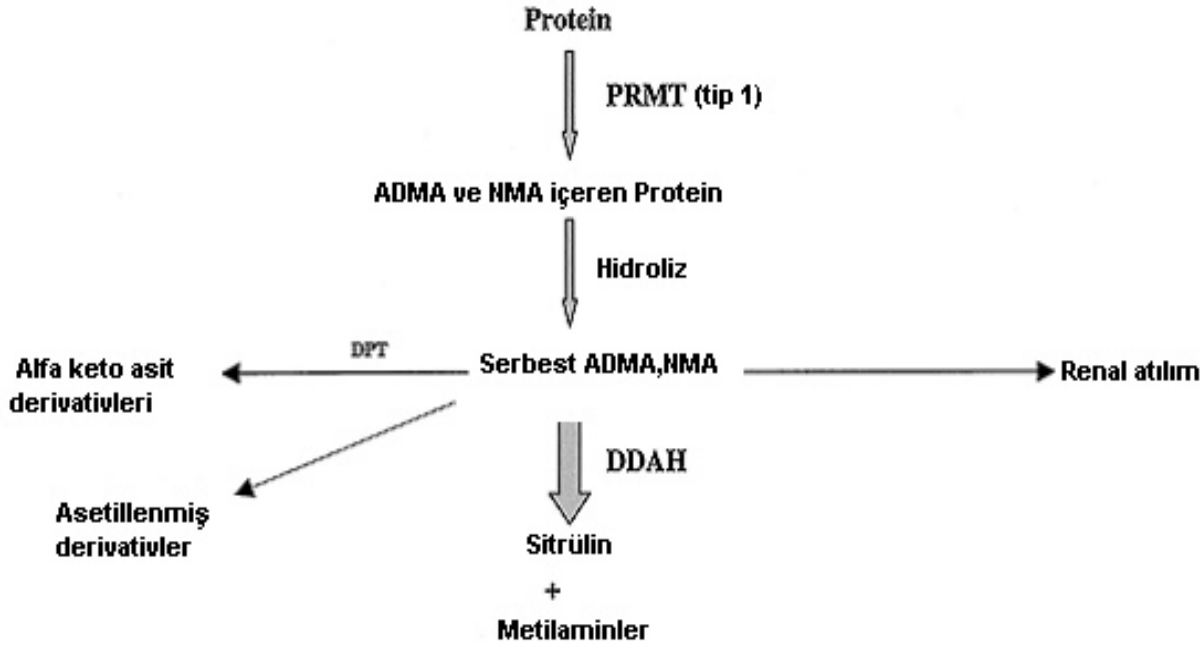
METİL ARJİNİNLER ve METABOLİZMALARI

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), N⁶ monometil L-arjinin (L-NMMA), ve simetrik dimetil arjinin (SDMA) başlıca metil arjinin türevleridir. Metil arjininler proteinlerdeki arjinin rezidülerinin posttranslasyonel modifikasyon ile metillenmesi sonucu oluşan türevlerdir. Bu metilasyonu protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimi katalizler ve böylelikle proteinlerin içindeki arjinin'in guanido azotuna 1 veya 2 metil grubu aktarımı gerçekleşir. Bu reaksiyonlar esnasında PRMT grubu enzimler S-adenozil metiyonini metil vericisi olarak kullanırlar (1,2).

PRMT grubu enzimlerinin 2 alt grubu tanımlanmıştır (Tip1 ve Tip2). PRMT reaksiyonları sonucu monometilasyon ya da dimetilasyon oluşur (1). Dimetilasyon olarak, Tip 1 PRMT reaksiyonu sonucu ADMA oluşurken, Tip 2 PRMT reaksiyonu

sonucu SDMA oluşur (şekil 1). Her iki tip PRMT'nin birkaç izoformu vardır, her iki izoformu da monometilasyon ile L-NMMA oluşumuna yol açabilir. Hücre yaşamının önemli bir bileşeni olan metillenmiş proteinler hidrolizlenerek, sitozolde serbest metilarjinin oluşumunu sağlarlar (2).

Tip1 PRMT en çok rastlanılan tipidir ve kardiovasküler sistemde kalp, düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir (1,3-5). Artan LDL ile birlikte artmış tip 1 PRMT ekspresyonu ile ADMA düzeylerinin LDL ile pozitif korelasyonu olduğu gözlemlenmiştir. Endotelial hücre kültürlerinde LDL, oxLDL konsantrasyonu artışı PRMT gen ekspresyonu artışına neden olur (6). Bu etki ADMA oluşumundaki değişikliklerle korele gözükmemektedir (6). Tip 1 PRMT aktivitesi sonucu oluşan ürünlerin nitrik oksit sentezi (NOS) inhibe edebilme özelliği vardır.



Şekil 2: ADMA metabolizması genel görünümü (9).

Tip 2 PRMT, SDMA oluşumunda rol oynar. SDMA'nın NOS'u inhibe etme özelliği yoktur. PRMT'lerin akciğerlerde fonksiyonel olduğu ve hipoksinin akciğerde PRMT 2 ekspresyonu ve akciğer ADMA konsantrasyonlarında düzenleyici olduğu gösterilmiştir (7).

Metilargininlerin bir kısmı renal yolla atılır. SDMA tamamiyle renal yolla atılırken ADMA'nın yıkımı dimetilarginin dimetil aminohidrolaz (DDAH) enzimiyle sitrülün ve dimetilamine yıkılması şeklindedir (5,8).

DİMETİLARJİNİN DİMETİL AMİNOHİDROLAZ (DDAH) ENZİMLERİ

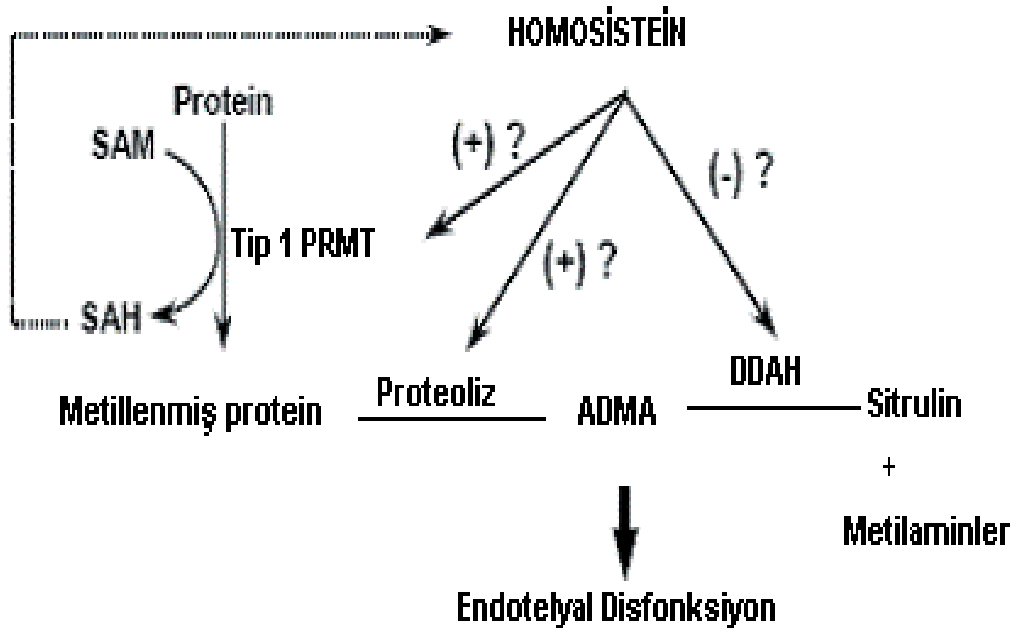
İnsanları da kapsayan gelişmiş organizmalarda DDAH enziminin DDAH1 ve DDAH2 olmak üzere 2 izoformu tanımlanmıştır. DDAH 1 enzimini kodlayan gen 1. kromozomda lokalize olmuş iken, DDAH 2'yi kodlayan gen 6. kromozomda lokalizedir. Bu izoformlar farklı doku dağılımları göstermelerine

rağmen aktiviteleri benzerdir. DDAH 1 ekspresyonu ile nöral NOS arasında, DDAH 2 ile endotelial NOS (eNOS) arasında ilişki vardır. Her iki izoform da kardiovasküler sistemde tespit edilmesine rağmen bu sistemde DDAH 2 ekspresyonun çok daha fazla olduğu gösterilmiştir (9,10).

DDAH, ADMA seviyelerini regüle etmede önemli rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalar ADMA'nın DDAH için substrat olduğunu, SDMA'nın olmadığını göstermiştir. Bu araştırmalar ADMA'nın SDMA'ya göre yaygın bir metabolizmasının olduğunu göstermiştir (11).

ADMA VE NİTRİK OKSİT İLİŞKİSİ

ADMA, L-Arjininin guanido analogudur ve endojen olarak sentezlenir. ADMA'nın NOS enzimini inhibe ettiği gösterilirken, ADMA'nın stereoizomeri olan SDMA'nın NOS enzimini inhibisyonu gösterilememiştir. ADMA ile birlikte L-NMMA, NOS'un endojen inhibitörüdür (3,4). Vasküler tonus ve yapının korunmasında endotelden salınan vazodilatörlerin önemli rolü vardır ve bu mediatörlerden en önemlilerinden birisi Nitrik Oksittir (12). Nitrik oksit



Şekil 3: Homosistein-ADMA etkileşimi (20)

NOS enziminin endotelial, nöronal ve makrofajlarda bulunan izoformları tarafından sentezlenir (13).

NO, kardiovasküler sistemin düzenleyici mekanizmalarının geniş bir kısmı ile ilişkilidir. Vazodilatasyonu uyarmasının yanında trombositlerin agregasyonu ve adezyonunu inhibe eder. Bununla beraber monosit ve lökositlerin endotele adezyonunu ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca NO, süperoksit radikalının vasküler üretimini azaltarak LDL oksidasyonunun bir inhibitörü gibi davranır (12,14). Endotelial hücre kültürlerinde DDAH'ın selektif inhibisyonu NO sentezinde azalmaya yol açar. Ortamın arjinin muhtevasının artırılması bu durumun tersine çevirebildiği gösterilmiştir (15). Metillenmiş arjinin analogları protein turnover'esi esnasında serbest hale gelirler ve böbrekler yoluyla atılırlar (16).

Arjinin ve ADMA, nitrik oksit sentezinin kontrolünde önemli rol oynarlar. Nitrik oksit vasküler tonusun düzenlenmesinde platelet adezyon ve agregasyonunda rol oynar. SDMA'nın NOS enzimi

üzerine inaktive edici etkisi yoktur, fakat arjinin ve ADMA ile hücre giriş yolunu etkileyerek NO üretim hızında dolaylı yoldan etkisi vardır. ADMA, SDMA ve L-NMMA, Y taşıyıcı protein adı verilen katyonik aminoasit taşıyıcıları aracılığıyla endotelial hücrelerin içine girerler. Metilarjininler birbirleriyle ve arjinin aminoasidi ile hücre içine giriş için yarışır. Yüksek konsantrasyondaki ADMA, NOS inhibisyonu yanı sıra L-Arjininin hücre içine transportunu engelleyerek de NO sentezi azaltır (4).

ADMA VE HOMOSİSTEİN İLİŞKİSİ

ADMA ve homosistein ilişkisi, aralarında çeşitli etkileşimler olduğundan dolayı ilginçtir. Homosistein, DDAH aktivitesini enzimin aktif bölgesindeki sistein rezidüsüyle etkileşimi yoluyla inhibe edebilir. Homosistein metilasyonunda ADMA önemli rol oynar. Arjinin metilasyonundaki metil vericisi S-Adenozilmetiyonin, ADMA, metil arjininler ve S-adenozil homosisteindir. S-adenozil homosistein daha sonra homosisteine çevrilir. Metiyonin döngüsünün yüksek

Tablo 1. Çeşitli klinik durumlarda ADMA düzeyinin kontrol grubuna göre durumu (39).

Hastalık	Artış oranı
Hiperkolesterolemi	2-3 kat
Hipertrigliseridemi	2 kat
Hipertansiyon	2 kat
Pulmoner Hipertansiyon	2-3 kat
Periferel Damar Hastalığı	2-4 kat
Kronik Böbrek Yetmezliği	2-12 kat
Kronik Kalp Yetmezliği	2-3 kat
Tip II Diabetes Mellitus	2 kat
Preeklampsi	2 kat

olması homosistein seviyelerini artırarak endotelial disfonksiyona neden olur (4). Homosistein gibi sülfhidril bloke edici ajanlar DDAH enzimini inhibe ederler. Dithiothreitol gibi dithiol redükthanlarının bu inhibisyonu engelleyebildiği veya tersine çevirebildiği gösterilmiştir (17).

Hiperhomosisteinemi de ADMA artışının diğer bir mekanizması ADMA'nın DDAH tarafından azalmış katabolizmasıdır (18). Bu mekanizmayı destekleyen Cooke ve arkadaşları yaptığı çalışmada, homosisteinin endotelial hücre kültüründe DDAH aktivitesini inhibe ederek ADMA düzeylerinin yükselmesine neden olduğunu gözlemlemişlerdir (19).

Metioninle zenginleştirilmiş hiperhomosisteinli diyet ve folik asitten yoksun bırakılmış maymunlarda yapılan bir çalışmada ADMA seviyelerinin yüksek bulunduğu gözlenmiştir. Akut metionin yüklenmesi olan kişilerde ADMA seviyesi hızlı şekilde arttırıldığı gösterilmiştir. Hiperhomosisteinemi dietle, plazma ADMA ve homosistein seviyeleri yaklaşık 3 kat arttırılabilmektedir (21).

YÜKSEK ADMA DÜZEYLERİ İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLAR

Renal Hastalıklar

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda yapılan çalışmalarda ADMA düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur. Böbrek yetmezliği olan hastalarda biriken ADMA miktarı ile gelişen endotel disfonksiyonu arasında ilişki vardır. Hemodiyaliz hastalarında gelişen endotel

disfonksiyon, kardiyovasküler olaylar ve mortalitede, ADMA sorumlu faktörlerden birisi olabilir. Hemodiyaliz ile ADMA'nın vücuttan uzaklaştırıldığı, ama diyaliz sonrası ADMA değerlerinin hemen yükseldiği, diyaliz öncesi değerlere döndüğü belirtilmiştir (4).

Diabetes Mellitus

Gerek deneysel hayvan çalışmalarında gerekse tip 1 ve tip 2 diyabette ADMA seviyeleri yüksek bulunmuştur. Yine insulin rezistansı olan hastalarda da ADMA yüksekliği tespit edilmiştir (22,23). Yüksek ADMA düzeylerinin kronik vasküler komplikasyonlu diabetli hastalarda ana morbidite ve mortalite sebeplerinden biri olacağı öne sürülmüştür. Artan kanıtlar göstermiştir ki NOS inhibitörü olan ADMA, diyabete yakından ilişkilidir. Ayrıca serum ADMA düzeyi yükselişi makroanjyopatisi olan hastalarda olmayanlara göre çok daha belirgin olarak bulunmuştur (24). Yapılan çalışmalarda insulin rezistansı ile ADMA seviyeleri arasında kuvvetli bir ilişki olabileceği gösterilmiştir (25). Yine yapılan çalışmalarda glukozun kendisinin DDAH aktivitesini baskılayabileceği sonucuna varılmıştır (26).

Kardiyovasküler Hastalıklar

Arjininden NO oluşumu ADMA gibi çeşitli arjinin analogları tarafından inhibe edilir. Bu analoglar trombüs oluşumu ve ateroskleroza sebep olabilir. Akut koroner sendromlu olgularda yapılan çalışmalarda ADMA seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur. Bu hastaların medikal tedavi sonrası ADMA seviyelerinin azaldığı gözlenmiştir (27).

Azuma ve arkadaşları karotid arterlerine balon uygulanan tavşanların rejenere endoteliumunda sağlıklı olanlara göre düşük intraselüler arjinin ve yüksek ADMA seviyeleri bulmuşlardır. Bu bulgular rejenere endoteliumda DDAH aktivitesinin düşük olduğunu ve arjinin seviyesinin yetersiz olduğunu düşündürmektedir (28).

ADMA seviyeleri kalp yetmezliği olan hastalarda da artar. ADMA'nın ventrikül kontraksiyonu ve kalp hızını azaltma kapasitesi vardır. ADMA'nın kardiyak fonksiyondaki rolü ve kalp

yetmezliğindeki endotel fonksiyonundaki rolü tam aydınlatılamamıştır (20).

Yüksek ADMA düzeyleri kardiyovasküler olay insidansının artması yanında konsantrik sol ventriküler hipertrofi ve karotid arter intima media kalınlığının artması ile de kuvvetli bir ilişki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (28). Karotid intima media kalınlığı güçlü kardiyovasküler risk markırıdır (29). Plazma ADMA konsantrasyonları klinik aşikar ateroskleroza olanlarda olmayanlara göre yüksek olarak bulunmuştur (30).

Kardiyovasküler patoloji için tedavinin amacı artmış ADMA'nın etkilerini ortadan kaldırmak veya ADMA seviyelerini azaltmaktır. Teorik olarak arjinin, ADMA'nın yerini alabilir ve NOS aktivitesini tamir edebilir. Arjininin hiperkolesterolemili hastalarda endotel disfonksiyonunu ve periferel vasküler hastalığı olan hastalarda yürüme zorluğunu düzelttiği gözlenmiştir. Bu hastalarda ADMA düzeylerini azaltmada diğer bir alternatif yol DDAH ekspresyonunu veya aktivitesini artırmaktır (21).

Alzheimer

Bu hastalarda homosistein ve ADMA'nın arttığı NO'nun azaldığı bulunmuştur. NO'nun ADMA etkisiyle düzeyi azaldığı için serebral kan akımı bozulur. NO sitoprotektif genlerin ekspresyonunu artırdığı için nöroprotektiftir, öğrenme ve ezberlemede etkilidir. L-Arginin'in oral yolla alımı ile, serebrovasküler hasarlı yaşlı hastaların kognitif fonksiyonlarında düzelme olabilir (31).

Preeklampsi

ADMA seviyeleri normal gebelik esnasında azalmaktadır, fakat preeklampsili gebelerde yükselmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda preeklampsi gelişiminden önce ADMA seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir.

Yüksek risk altındaki kadınların erken dönemde belirlenmesinde ADMA yeni bir risk markırı olarak ortaya çıkabilir. Gebelikte erken dönemde ADMA düzeyi yüksek olan kadınlarda ADMA seviyesi ile endotelial disfonksiyon arasında ilişki vardır ama

bu, kadınlarda sadece preeklampsi gelişimi olarak görülür (20). Speer ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışma da bu görüşü desteklemektedir(32). Slaghekke ve arkadaşları da yükselmiş ADMA seviyelerinin preeklampsi patogeneğinde önemli rol alabileceğini savunmuşlardır(33). Kim YJ ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise L-Arjinin seviyelerinin preeklampsili gebelerde normal gebelere göre önemli ölçüde düşük bulmalarına karşın ADMA seviyelerinde önemli bir değişiklik tespit etmemişlerdir(34).

Karaciğer Yetmezliği ve Siroz

Multiple organ yetmezliği olan hastalarda ve son dönem karaciğer hastalarında bozulmuş karaciğer fonksiyonları ADMA seviyelerinin yükselmesine neden olur.

Dekompanse dönemdeki hastalarda artmış ADMA konsantrasyonları hepatoselüler hasara cevabı yansıtabilir. DDAH'lar karaciğer dahil çok sayıda dokuda yaygın olarak dağılmıştır. ADMA dekompanse sirozlu hastalarda yükselirken SDMA için gruplar arasında farklılık bulunmamıştır. Mevcut sonuçlarda ADMA/SDMA oranının yükselmesinin gözlenmesi DDAH aktivitesinin azalmasına işaret eder (35). Mookerjee ve arkadaşları akut karaciğer yetmezliği olan hastalarda ADMA seviyelerinin kontrol grubuna oranla önemli ölçüde yüksek olduğunu bulmuşlardır (36). ADMA düzeylerinin karaciğer rezeksiyonu yapılmış olan hastalarda yükselmesi karaciğerin ADMA eliminasyonundaki önemli rolünü göstermektedir (37).

Hemorajik Şok

ADMA üretiminin hipoksi gibi hücrel stres durumlarında arttığı düşünülmektedir (24).

Doku hipoksisi ve oligüri şiddetli hemorajik şokun iki karakteristik bulgusudur ADMA düzeylerinin hemorajik şokta yükseldiği görülmüştür. şiddetli hemoraji durumunda oluşan oligüriden dolayı azalmış üriner atılım nedeniyle ADMA seviyeleri artar. ADMA birikimi nedeniyle Arjinin-NO yolağının bozulmasından dolayı akut hipovolemide sistemik kan basıncının sürdürülmesinde

ADMA etkili olabilir (38).

Çeşitli hastalıklardaki ADMA düzeylerinin kontrole göre artış oranları Tablo 1’de belirtilmektedir.

ADMA DÜZEYİNİ AZALTMA STRATEJİLERİ

Son zamanlarda bazı aminoasit, hormon ve vitamin destekleri ile ADMA düzeyini azaltarak çeşitli fonksiyonların değerlendirilmesine gidilmiştir. ADMA düzeyini azaltmak amacı ile yapılan destekleyici tedavilerde l-arjinin, ACE inhibitörleri, östrojen, metformin, tiazolidinedionlar, D vitamini, folik asit, all-transretinoik asit, fenofibrat ve statin uygulamaları yapıldığı literatürde gözlemlenmektedir.

L-Arjinin: L- Arjinin desteğinin ADMA seviyesi ne olursa olsun endotel fonksiyonu, miyokard perfüzyonu, anjina, erektil disfonksiyon ve egzersiz toleransında düzelmeye neden olabileceği belirtilmiştir (30). Kardiyovasküler disfonksiyonun tedavisinde arjinin destek tedavisi faydalı bulunmuştur. Kontrol edilemeyen anjinası olan 10 hastanın 7’sinde 3 ay süreyle günlük 9 gram arjinin semptomlarda belirgin bir düzelmeye sağlamıştır. Hücre adezyon moleküllerinde proinflamatuvar sitokinlerde önemli düşüşler gözlenmiştir. L-Arjininin deneysel hipertansiyonun bazı tiplerinde sistemik kan basıncını düşürdüğü görülmüştür (30).

ACE inhibitörleri: ACE inhibitörleriyle tedavi edilen aterosklerozlu ve NIDDM’li hastalarda ADMA seviyeleri azaldığı gösterilmiştir (30).

Metformin ve tiazolidinedionlar: Özgürtaş ve arkadaşlarının ülkemizde polikistik over sendromu olan hastalarda yaptıkları çalışmada 3 ay süreyle metformin ve oral kontraseptiflerle ADMA seviyesinde azalma tespit etmişlerdir(40). Bu ilaçların hangi mekanizma ile ADMA seviyesini azalttıkları net olarak açıklanamamaktadır.

Östrojenler: Deneysel çalışmalarda DDAH ekspresyonunu artırarak ADMA düzeyini düşürdükleri gözlenmiştir (20).

Vitamin D: DDAH enzim düzeyini artırarak ADMA düzeyini azaltabileceği belirtilmektedir.

Folik Asit: Hiperhomosisteinamik

bireylerde hem ADMA, hem de arjinin seviyesini azalttığı gösterilmiştir (20).

All-transretinoik asit: Endotel hücrelerde DDAH 2 ekspresyonunu düzenlediğine dair kanıtlar vardır (28).

Fenofibratlar: Yung ve arkadaşlarının hipertrigliseridemik hastalar üzerinde yaptığı çalışmada fenofibrat tedavisinin ADMA ve MDA düzeylerini azalttığı görülmüştür (41). ADMA düzeyindeki düşüşün DDAH enzim aktivite regülasyonu ile olabileceği Yung ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür.

Statinler: Tanaka ve arkadaşları atorvastatin kullanımının ADMA düzeylerinde belirgin ölçüde düşüşe neden olduğunu ve hipertansiyon ve ateroskleroza bağlı inmelerin önlenmesinde güvenle kullanılabileceğini savunmuşlardır (42).

ADMA ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ;

ADMA ile beraberinde L-Arjinin, SDMA ve L-NMMA çeşitli yöntemler ile ölçülebilmektedir. ADMA ölçümü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (43), floresansla indüklenmiş kapiller elektroforez- laser (44), likit kromatografi-kütle spektrometrisi (45), gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (46) ve ELISA yöntemleri ile yapılabilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Clarke S. Protein methylation. Curr Opin Cell Biol 1993;5:977-983.
2. McBride AE, Silver PA. State of the Arg: Protein methylation at arginine comes of age. Cell 2001;106:5-8.
3. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. Lancet 1992;339:572-575.
4. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular Biology of the Asymmetric Dimethylarginine: Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Pathway. Arterioscler Thromb Vas Biol 2004;24:1023-1030.
5. Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Purification and properties of a new enzyme. NG,NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase from rat kidney. J Biol Chem 1989;264: 10205-9.
6. Boger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, et al. LDL cholesterol upregulates synthesis

- of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 2000;87: 99-105.
7. Yıldırım AO, Bulau P, Zakrzewicz D, Kitowska KE, Weissmann N, Grimminger et al. Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia: Role of protein arginine methyltransferases. *Am J Respir Cell Mol Biol*.2006;35:436-43.
 8. Kimoto M, Whitley GS, Tsuji H, Ogawa T. Detection of NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase in human tissues using a monoclonal antibody. *J Biochem* 1995;117:237-238.
 9. John P. Cooke. Does ADMA Cause Endothelial Dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2032-2037.
 10. Leiper JM, Santa MJ, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, et al. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J* 1999;343:209-14.
 11. Tran Cam TL, Fox MF, Vallance P, Leiper J. Chromosomal localization, gene structure and expression pattern of DDAH1: Comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. *Genomics* 2000;68:101-105.
 12. RH Böger. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovascular Research* 2003; 59: 824-33.
 13. Böger RH, Eyal SR. L-Arginine improves vascular function by overcoming the deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern Med Rev* 2005; 10(1): 14-23.
 14. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: Interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987;92:639-46.
 15. MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell RJ, Hodson H, et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1533-40.
 16. Nijveldt RJ, van Leeuwen PA, Van Guldener C, Stehouwer CD, Rauwerda JA, Teerlink T. Net renal extraction of asymmetrical (ADMA) and symmetrical (SDMA) dimethylarginine in fasting humans. *Nephrol Dial Transplant* 1999-2002: 17.
 17. Mark F, McCarty. *Medical Hypotheses* 2004; 63: 699-708.
 18. Vallance P. The asymmetrical dimethylarginine/dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway in the regulation of nitric oxide production. *Clin Sci* 2001; 100: 159-60.
 19. Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001; 104: 2569-75.
 20. Lentz SR, Rodionov RN, Dayal S. Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular risk: the potential role of ADMA. *Atherosclerosis Supplements* 2003; 4: 61-5.
 21. Böger RH, Bode-Böger SM, Heistad DD, Lentz SR. Elevated plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, in monkeys with hyperhomocysteinemia. *Circulation* 1998; 98: 733.
 22. Xiong Y, Fu YF, Fu SH, Zhou HH. Elevated levels of the serum endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and metabolic control in rats with streptozotocin induced diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42: 191-6.
 23. Paiva H, Lehtimäki T, Laakso J, Ruokonen I, Rantalaiho V, Wirta O, et al. Plasma concentrations of asymmetric-dimethylarginine in type 2 diabetes associate with glycemic control and glomerular filtration rate but not with risk factors of vasculopathy. *Metabolism* 2003; 52: 303-7.
 24. Yan T, Minxiang L, Sihai F, Yunfeng F. Effect of diabetic duration on serum concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in patients and rats with diabetes. *Life Sciences* 2005; 77: 149-59.
 25. Stuhlinger MC, Abbasi F, Chu JV, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, et al. Relationship between insulin resistance and endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 2002; 287: 1420-6.
 26. Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto N, et al. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 2002;106:987-992.
 27. Bae SW, Stühlinger MC, Yoo HS, Yu KH, Park HK, Choi BY, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations in newly diagnosed patients with acute myocardial infarction or unstable angina pectoris during two weeks of medical treatment. *Am J Cardiol* 2005;95:729-733.
 28. Zoccali C, Mallamaci F and Tripepi G. Novel cardiovascular risk factors in end-

- stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 77-80.
29. Hodis HN, Mack WJ, Labree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med* 1998; 128: 262-9.
 30. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: Relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 594-600.
 31. Kielstein JT, Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine: A Cardiovascular risk factor and a uremic toxin coming of age? *Am J Kidney Dis* 2005;46:2:186-202.
 32. Speer PD, Powers RW, Frank MP, Harger G, Markovic N, Roberts JM. Elevated asymmetric dimethylarginine concentrations precede clinical preeclampsia, but not pregnancies with small-for-gestational-age infants. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198(1): 112. 1-7.
 33. Slaghekke F, Dekker G, Jeffries B. Endogenous inhibitors of nitric oxide and preeclampsia: a review. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2006;19(8):447-52.
 34. Kim YJ, Park HS, Lee HY. Reduced L-arginine level and decreased placental eNOS activity in preeclampsia. *Placenta* 2006; 27(4-5): 438-44.
 35. Liuch P, Torondel B, Medina P, Segarra G, Olmo JA, Serra MA, Rodrigo JM. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. *J Hepatol* 2004; 41(1): 55-9.
 36. Mookerjee RP, Dalton RN, Davies NA. Inflammation is an important determinant of levels of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine (ADMA) in acute liver failure. *Liver Transpl* 2007; 13(3): 400-5.
 37. Nijveldt RJ, Teerlink T, Siroen MP Elevation of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in patients developing hepatic failure after major hepatectomy. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2004; 28(6): 382-7
 38. Anemon A, Backman V, Snygg J, von Bothmer C, Fandriks L, Petterson A. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase during graded hemorrhagic shock. *Circ Shock* 1994; 44(3): 111-4.
 39. Barbera JA, Peinado VI, Santos S. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2003; 21: 892-905.
 40. Ozgurtas T, Oktenli C, Dede M, Tapan S, Kenar L, Sanisoglu SY, et al. Metformin and oral contraceptive treatments reduced circulating asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Atherosclerosis* 2008; 15 [Epub ahead of print]
 41. Yang TL, Chen MF, Xia X, Luo BL, Li YJ. Effect of fenofibrate on the level of asymmetric dimethylarginine in individuals with hypertriglyceridemia. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 179-84.
 42. Tanaka N, Katayama Y, Katsumata T. Effects of long-term administration of HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, on stroke events and local cerebral blood flow in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Brain Res* 2007; 12: 125-32.
 43. Chen BM, Xia LW, Zhao RQ. Determination of NG,NG dimethylarginine in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 1997; 692: 467-71.
 44. Causse E, Siri N, Arnal JF, Bayle C, Malatray P, Valdiguié P, et al. Determination of asymmetrical dimethylarginine by capillary electrophoresis-laser-induced fluorescence. *J Chromatogr B* 2000; 741: 77-83.
 45. Vishwanathan K, Tackett RL, Stewart JT, Bartlett MG. Determination of arginine and methylated arginines in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2000;748:157-166.
 46. Tsikas D, Schubert B, Gutzki FM, Sandmann J, Frölich JC. Quantitative determination of circulating and urinary asymmetric dimethylarginine (ADMA) in humans by gas chromatography-tandem mass spectrometry as methyl ester tri (Npentafluoropropionyl) derivative. *J Chromatogr B* 2003; 798: 87-99.
 47. Schulze F, Wesemann R, Schwedhelm E, Sydow K, Albsmeier J, Cooke JP, Böger RH. Determination of asymmetric dimethylarginine (ADMA) using a novel ELISA assay. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 1377-83.