

Kronik Obstruktif Akciğer Hastalarında Serum ADMA ve NO Düzeyleri

Serum ADMA and NO Levels in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients

Said Sami Erdem*

Fikret Kanat**

Ali Ünlü***

* Kars Doğum ve Çocuk Bakımevi Laboratuvarı, Kars

** Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya

*** Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya

Geliş tarihi: 04 Mayıs 2009

Kabul tarihi: 25 Mayıs 2009

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada KOAH hastalarında serum ADMA, NO ve arjinin düzeylerindeki değişiklikleri belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 75 KOAH hastası dahil edildi. Seçilen hastaların başka herhangi bir hastalığı yoktu. Kontrol grubu görünürde sağlıklı 25 kişiden oluşturuldu. ADMA ve arjinin düzeyleri yüksek basınçlı likit kromatografi metoduyla floresans dedektörde ölçüldü. Plasma Nitrit/Nitrat konsantrasyonları kolorimetrik metotla ölçüldü.

Bulgular: KOAH hastalarında ADMA seviyeleri kontrol grubuna kıyasla yüksek ($p<0.001$), NO seviyeleri düşük olarak bulundu ($p:0.02$). Arjinin seviyeleri açısından iki grup arasında farklılık yokken, KOAH grubunda Arjinin/ADMA oranları kontrol grubundan önemli ölçüde farklıydı. ($p:0.003$)

Sonuç: Bizim çalışmamız ADMA seviyelerinin KOAH hastalarında arttığını göstermiştir. KOAH'ın prognozunu belirlemede ADMA yeni bir belirteç olarak kullanılabilir. ADMA KOAH hastalarında meydana gelen pulmoner hipertansiyonun patogeneğinde önemli bir rol oynayabilir. Bu yüzden pulmoner hipertansiyonun önlenmesi ve tedavisinde ADMA önemli bir hedef olabilir.

Anahtar Sözcükler: Asimetrik dimetilarjinin, nitrik oksit, KOAH

ABSTRACT

Objective: The aim of our study was to determine serum ADMA, NO and arginine levels in patients with COPD.

Material and Methods: Seventy five COPD subjects participated in this study. To be selected patients had to have no other diseases. The control group was formed by twenty five apparently healthy people.

Bu çalışma;

1. 31st FEBS Congress. The FEBS Journal. 24-29 June 2006, İstanbul, Türkiye
2. 32nd FEBS Congress. The FEBS Journal. 7-12 July 2007, Viyana, Avusturya
3. Balkan Journal of Clinical Laboratory. 4-7 September 2007, Antalya, Türkiye kongrelerinde sunulmuştur.

ADMA and arginine levels were measured by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Plasma Nitrite/Nitrate concentrations were determined using a commercial colorimetric assay.

Results: Patients of COPD had significant higher values of ADMA ($p < 0.001$), lower values of NO compared to control group ($p: 0.02$). There was no difference between groups for arginine values ($p: 0.2$), but the Arginine/ADMA ratio of COPD group was significantly different compared to control group ($p: 0.003$).

Conclusion: Our study shows that plasma ADMA level is increased in the COPD patients. ADMA seems to be a possible new marker of prognosis of COPD. ADMA may play an important role in the progression of pulmonary hypertension in COPD patients. ADMA may therefore represent a novel therapeutic target for the treatment and prevention of pulmonary hypertension.

Key Words: Asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, COPD

GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), tüm dünya ülkelerinde önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmakla birlikte hastalık tam olarak geri dönüşü olmayan hava akımı sınırlanması ile karakterize bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hiperkapni, hipoksemi, kronik kor pulmonale ve kilo kaybı KOAH'ın geç görülen etkileri olup hastalığın prognozu ile pozitif korelasyon gösterirler (1,2).

Pulmoner arter basınç artış nedenlerinden birisi de güçlü vazodilatör etkili nitrik oksit (NO) etkinliğinin azalması olarak kabul edilmektedir. Kronik hipoksiye sekonder pulmoner hipertansiyon nitrik oksit sentaz (NOS) enzimlerinin artmış pulmoner ekspresyonu ile birlikte. Buna rağmen bu hastalıkta nitrik oksit pulmoner üretiminin azalmış olduğu gösterilmiştir. NO sentezini regüle eden NOS enziminin aktivitesi ise endojen bir inhibitör olan asimetrik dimetilarginin (ADMA) molekülü ile düzenlenmektedir. ADMA'nın NO'nun endojen inhibitörü olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (3).

ADMA'nın en önemli metabolik yolu Dimetilarginin Dimetil Amino Hidrolaz (DDAH) enzimiyle sitrülün ve dimetilamine yıkılmasıdır (4,5).

Bazı araştırmacılar çalışmalarında hipoksiye maruz bırakılan domuzlarda DDAH aktivitesinin baskılandığını göstermişlerdir. DDAH aktivitesi ve ekspresyonu yeni doğanların primer pulmoner hipertansiyonunda azalmış-

tır. Bu da bu hastalarda NOS aktivitesinin azalmasını ve ADMA seviyelerinin yükselmesini açıklamaktadır (6).

Çalışmamızın amacı kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastaların kan ADMA, NO ve arginin düzeylerini belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı polikliniğine başvuran, GOLD'a (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı için Global Girişim) göre Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) tanısı konmuş 75 erkek hasta (65.2 ± 0.8) ve benzer yaş grubunda bilinen herhangi bir hastalığı olmayan 25 erkek (63.1 ± 0.8) kontrol grubu olarak alındı. Hastaların bilinen başka bir hastalığı (pnömoni, diyabet, böbrek yetmezliği, akciğer kanseri, aterosklerotik kalp hastalığı, sol ventrikül yetmezliği v.b.) yoktu. Bu çalışma için Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı ve hastalar çalışma hakkında bilgilendirildi.

İlk başvuru esnasında hastalara posteroanterior ve lateral akciğer grafileri çekildi. Bütün solunum fonksiyon testleri (SFT) hastaların göğüs hastalıkları kliniğine ilk başvuruları esnasında Vmax 2100 Sormedics marka spirometri cihazı kullanılarak değerlendirildi. Zorlu ekspiryum manevrasıyla elde edilen üç testten en iyi değer solunum fonksiyon testi olarak kullanıldı. FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF değerleri ölçüldü.

Numunelerin Toplanması

ADMA, arjinin ve NO için hastalar oturur pozisyonda iken iki ayrı antikoagülsüz tüpe venöz kan örnekleri alındı. ADMA ve arjinin örnekleri hemen soğuk zincire riayet edilerek soğutmalı santrifüj ile +4°C de 2000 x g devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar sülfosalisilik asit ile uygulanan deproteinizasyon işleminden sonra ADMA ve arjinin çalışmaları için ependorf tüplere aktarılıp -80°C de çalışma gününe kadar muhafaza edildi. NO örnekleri 2000 x g devirde 5 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serum örnekleri -80°C de çalışma gününe kadar muhafaza edildi. ADMA ve arjinin düzeyleri HPLC metoduyla floresans dedektörde ölçüldü (7).

Plasma Nitrit / Nitrat düzeyleri Cayman marka (Michigan, ABD) ticari kit kullanılarak kolorimetrik metodla ölçüldü.

Tüm hastalar oda havası solurken heparinize enjektörlere 2 ml arter kanı alınarak kan gazı analizleri Bayer Rapidlab 1265 marka cihaz ile yapıldı. Kan gazı örneklerinde PaO₂ < 60 mmHg, PaCO₂ > 45 mmHg olanlar solunum yetmezliği olarak kabul edildi.

İstatistiksel Analiz

Veriler bilgisayar ortamına aktararak "SPSS 13.0 for Windows" programı yardımıyla ista-

tistiksel analizler yapıldı. Veriler "ortalama ± standart hata" ve yüzde olarak özetlendi. Parametrelerin gruplar arası karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi yapıldı. Korelasyon testleri için Pearson ve Spearman's korelasyon çalışmaları yapıldı. Anlamlılık seviyesi p<0.05 olarak alındı.

BULGULAR

KOAH ve kontrol gruplarının yaşları, solunum fonksiyon testleri ve arteriyel kan gazları sonuçları Tablo 1'de gösterilmektedir. Hasta grubu ile kontrol arasından yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmedi (p>0.05). KOAH grubu solunum fonksiyon testlerinin kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede (p<0.05) düşük olduğu tespit edildi. Benzer şekilde pH dışındaki arteriyel kan gazları parametrelerinde de KOAH ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu belirlendi (p<0.05).

Grupların serum ADMA, nitrik oksit, arjinin ve Arjinin/ADMA değerleri Tablo 2'de gösterilmektedir. Serum ADMA düzeylerinin KOAH'lı hastalarda (6.4 ± 0.5µM) kontrol grubuna (2.7 ± 0.3 µM) göre oldukça yüksek olduğu (p< 0.001) olduğu tespit edildi. Buna karşın KOAH'lı hastalarda serum arjinin düzeyleri 350.5 ± 17.7 µM iken kontrol grubunda 399.2 ± 39.3 µM olarak saptandı. Gruplar

Tablo 1. KOAH ve kontrol gruplarında yaş, SFT ve kan gazları parametrelerinin ortalama ± SE (Standart Hata) değerleri.

	KOAH (n:75)	Kontrol (n:25)	P değeri
Yaş	65.2 ± 0.8	63.1 ± 0.8	>0.05
Solunum Fonksiyon Testi			
FEV ₁ (% pred)	53.9 ± 2.5	93.1 ± 1.7	<0.001
FVC (% pred)	69.8 ± 2.5	90.2 ± 0.9	<0.001
FEV ₁ / FVC	59.7 ± 1.9	90.8 ± 1.1	<0.001
FEF ₂₅₋₇₅ (% pred)	33.9 ± 2.5	94 ± 1.3	<0.001
PEF (% pred)	49.4 ± 3.1	95.8 ± 1.8	<0.001
Arteriyel Kan Gazı			
Ph	7.41 ± 0.01	7.41 ± 0.01	>0.05
PaO ₂ mmHg	66.0 ± 1.3	88.5 ± 0.8	<0.001
PaCO ₂ mmHg	43.9 ± 0.9	36.6 ± 0.5	<0.001
SaO ₂	90.4 ± 0.8	94.5 ± 0.5	0.007

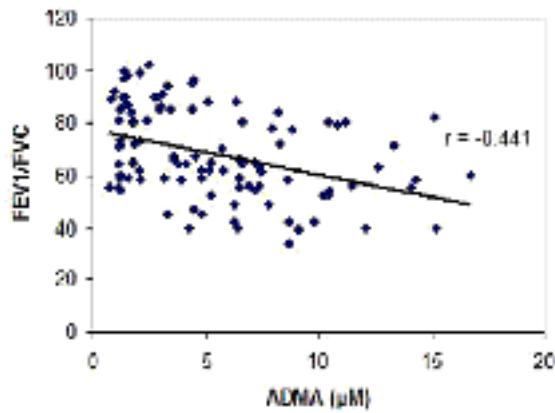
Tablo 2. KOAH ve kontrol gruplarında ADMA, NO, Arjinin ve Arjinin/ADMA parametrelerinin ortalama \pm SE değerleri.

	KOAH (n:75)	Kontrol (n:25)	P değeri
ADMA (μ M)	6.4 \pm 0.5	2.7 \pm 0.3	<0.001
ARJİNİN (μ M)	350.5 \pm 17.7	399.2 \pm 39.3	0.2
ARJİNİN/ADMA	110.7 \pm 15.7	216.2 \pm 37.0	0.003
NO (μ M)	3.3 \pm 0.2	4.6 \pm 0.6	0.02

arasındaki bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). KOAH grubunda Arjinin/ADMA ortalaması 110.7 ± 15.7 olarak, kontrol grubunda ise 216.2 ± 37.0 olarak bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p: 0.003$). KOAH'lı hastalarda serum NO düzeylerin ortalaması $3.3 \pm 0.2 \mu$ M iken kontrol grubunda $4.6 \pm 0.6 \mu$ M olarak belirlendi. Gruplar arası bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p: 0.02$).

KOAH grubunda serum ADMA ve NO düzeyleri arasında negatif bir korelasyon tespit edildi ($r = -0.320$, $p:0.001$). KOAH grubundaki ADMA-NO arası korelasyon Grafik 1'de gösterilmektedir.

Serum ADMA düzeyleri ile kan gazları arasında korelasyon testleri uygulamasında PaO_2 ile ADMA arasında negatif bir korelasyon tespit edildi ($r = -0.299$, $p:0.002$). Serum ADMA düzeyleri ile pH arasındaki negatif korelasyon anlamlı değildi ($r = -0.057$, $p>0.05$).

**Grafik 1.** ADMA-NO korelasyon grafiği.**Tablo 3.** Ölçülen parametrelerin ADMA ile korelasyonları.

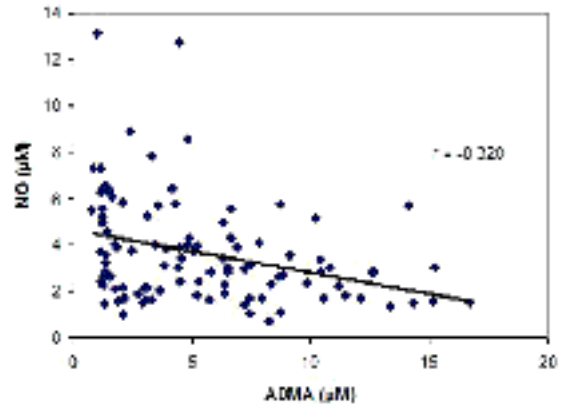
	r	P
NO	-0.320	0.001
FEV ₁	-0.508	0.000
FVC	-0.446	0.000
FEV ₁ /FVC	-0.441	0.000
pH	-0.057	>0.05
PaO ₂	-0.299	0.002
SaO ₂	-0.162	>0.05
PaCO ₂	0.277	0.005

Serum ADMA düzeyleri ile PaCO_2 arasında pozitif korelasyon bulundu ($r = 0.277$, $p:0.005$). Serum ADMA düzeyleri ile SaO_2 arasında negatif bir ilişki gözlemlense de anlamlı düzeyde değildi ($r = -0.162$, $p>0.05$). Tüm parametrelerin ADMA ile korelasyonları Tablo 3'te gösterilmektedir.

Serum ADMA düzeyleri ile solunum fonksiyon testleri arası korelasyona bakıldığında ADMA ile FEV₁, FVC ve FEV₁/FVC arasında anlamlı negatif korelasyon bulundu (sırasıyla $r = -0.508$, -0.446 , -0.441 , $p:0.000$). KOAH grubunda ADMA-FEV₁/FVC arası korelasyon Grafik 2'de gösterilmektedir. Yüksek ADMA değerlerine azalmış solunum fonksiyon testlerinin eşlik ettiği görüldü.

TARTIŞMA

ADMA proteinlerin posttranslasyonel metilasyonu yoluyla meydana gelir. Renal yolla da

**Grafik 2.** ADMA-FEV₁/FVC korelasyon grafiği.

atılmakla beraber başlıca metabolik yol DDAH enzimiyle sitrulin ve dimetilamine yıkılımıdır. Son dönemlerde yapılan çalışmalar NOS aktivitesinde ADMA'nın önemli bir rolünün olduğunu ortaya koymuştur. NOS aktivitesinin ADMA ile inhibisyonu sonucu vazodilatatör etkili NO sentezi olamamakta ve bu da çeşitli klinik bozuklukların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Çok sayıda çalışma ADMA seviyelerinde hafif artışların bile kardiyovasküler değişikliklerin oranında artışa sebep olduğunu göstermiştir (8).

Pulmoner hipertansiyon; pulmoner kan basıncı artışı, küçük pulmoner arterlerin yeniden yapılanması ve sağ ventriküler hipertrofi ile karakterizedir. Pulmoner hipertansiyon patofizyolojisinde ilk olayın endotel disfonksiyonu olduğu düşünülmektedir. Bunda endotel kaynaklı nitrik oksit fonksiyonu tartışılmaktadır (9). Klinik çalışmalarda kısa dönemli inhale NO tedavisinin yararlı etkiler göstermesi NO bağımlı vazodilatasyonun pulmoner hipertansiyonda bozulduğunu göstermiştir (10). Çok sayıda çalışma kronik hipoksiye bağlı pulmoner hipertansiyonda paradoksik olarak eNOS'un pulmoner ekspresyonunun arttığını göstermiştir (11). Her ne kadar bazı çalışmalar NOS aktivitesinin arttığı ve bunun mediatörü olan cGMP'nin arttığını gösterse de çok sayıda çalışmada da bu hastalıkta NO üretiminin azaldığı gösterilmiştir (12-15). Bu yüzden pulmoner hipertansiyonda artmış NOS aktivitesi her zaman NO aktivitesinde artmayla korele değildir. Kompleks düzenleyici mekanizmaların varlığı söz konusu olabilir. NOS enzim aktivitesi metil arjininler (ADMA, L-NMMA) tarafından kompetitif olarak inhibe edilir. Serumda ADMA'nın miktarı L-NMMA miktarının 10 katıdır (3).

KOAH grubunda ADMA düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin şekilde yüksek olduğunu gözledik. Elde ettiğimiz bu bulgunun araştırmacılar tarafından yapılmış olan deneysel çalışmalarda elde edilen ADMA bulguları ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Kielstein ve ark. (16), idiopatik pulmoner hipertansiyonu olan 57 hastada serum ADMA düzeylerinin kontrol grubuna oranla önemli ölçüde yüksek olduğunu ve mixed venöz oksijen saturasyonu ile serum ADMA düzeyleri arasında negatif korelasyon bulunduğunu tespit ettiler.

Çalışmamızdaki KOAH hastalarında solunum testleri ve kan gazı analizleri sonucu tespit ettiğimiz hipoksinin de ADMA düzeyleri üzerine artıcı etkisi olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (3,17,18). Millat ve ark. (3), 1 hafta süreyle hipoksiye maruz bırakılan ratlarda eNOS ekspresyonundaki artışa rağmen ADMA düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Yine domuzların hipoksiye maruz bırakıldığı bir çalışmada da DDAH aktivitesinin baskılandığını göstermişlerdir. Anemon ve ark. (18), hemorajik şok yaptıkları hayvanlarda hemoraji öncesi ve sonrası ADMA düzeylerini araştırmışlardır. Hemorajik şok oluşturulan hayvanlarda meydana gelen hipoksi ve oligüri tablosu sonucu ADMA düzeylerini hemoraji öncesi değerlerine göre yüksek olarak bulmuşlardır. Yıldırım ve ark. (17), 3 hafta süreyle hipoksiye (%10 O₂) maruz bırakılan ratlarda ADMA miktarını hipoksik grupta normoksik gruba göre yüksek olarak bulmuşlardır. Bu çalışmayla hipoksi sonucu alveolar tip 2 hücrelerde PRMT 2 ekspresyonunun arttığını böylece protein metilasyonunda artışın gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda PaO₂ ile ADMA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir negatif korelasyon tespit edildi. SaO₂ değeri ile ADMA seviyesi arasında negatif bir korelasyonun varlığı tespit edilmekle birlikte bu korelasyonun istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi. Yapmış olduğumuz çalışmada elde ettiğimiz bu sonuçlar doğrultusunda ADMA'nın sadece KOAH'lı hastalarda belirli derecelerde meydana gelen pulmoner hipertansiyonda değil, bu hastalarda oluşmuş olan kronik hipoksi sonucunda da artmış olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca bu hastalarda oluşmuş olan br onş konstrüksiyonu da ADMA

düzeyinin yükselmesi nedenlerden biri olabilir. Pullamsetti ve ark. (19), deneysel pulmoner hipertansiyon oluşturdıkları çalışmalarında; ratlarda gerek serum gerekse de dokuda ADMA ve SDMA düzeylerinin yükseldiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada DDAH ekspresyonundaki azalma ile ADMA artışını açıklamışlardır. Yine Gorenflo ve ark. (20), düşük ve yüksek basınçlı konjenital pulmoner hipertansiyon hastalarında ADMA düzeylerini araştırdılar. Çalışmalarında yüksek basınçlı konjenital pulmoner hipertansiyon hastalarında ADMA düzeylerini diğer gruba göre daha yüksek olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada yüksek ADMA düzeylerinin yüksek pulmoner basınç ile korele olduğu gözlenmektedir. Özkan ve ark. (21), obstruktif uyku apnesi olan hastalarda serum ADMA seviyelerini kontrol grubuna oranla yüksek, NO düzeylerini düşük bulmuşlardır. Ricciardolo ve ark. (22), NOS regülasyonunun astım ve KOAH'ın tedavi ve önlenmesinde önemli bir hedef olabileceğini savunmuşlardır.

Çalışmamızda Arjinin düzeyleri açısından KOAH grubu ile kontrol grubu arasında bir farklılık gözlemedik. Arjinin/ADMA oranlarını KOAH grubunda kontrol grubuna göre düşük olarak bulduk (p:0.003).

Çalışmamızda KOAH grubunun NO düzeyleri kontrol grubundan düşük olarak tespit edildi. NO oldukça labil bir molekül olup gerçek düzeylerin tespiti oldukça zor olmaktadır. Literatürlerde farklı NO düzeylerinin tespiti altında yatan en önemli nedenlerden birisi de metodolojik farklılıklardır. Azalan NO düzeylerinin artmış hasara neden olabileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (14,15,21). Gerek bizim çalışmamız gerekse de literatürdeki çalışmalar ADMA'nın önemli bir hedef molekül olabileceğini ve düzeyinin düşürülmesinin hastalığın ilerlemesi üzerinde önemli etkisi olabileceğini göstermektedir. Yine çalışmamız ADMA düzeyinin yüksekliğinin KOAH hastaları için kötü bir prognostik belirteç olabileceğini göstermektedir. ADMA düzeyini azaltacak

stratejiler hastalığın gerek tedavisinde gerekse de semptomlarının azaltılmasında yardımcı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, Fukuchi Y, Jenkins C, Rodriguez-Roisin R, van Weel C, Zielinski J; Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for The Diagnosis, Management, and Prevention Of Chronic Obstructive Lung Disease; GOLD executive Summary. Am J Respir Crit Care Med 2007; 176 (6): 532-55.
2. National Heart, Lung and Blood Institute. Morbidity and mortality: chartbook cardiovascular, lung and blood diseases. Bethesda, MD: US Department, of health and Human Services, Public Health Services, National Institute of Health: 2003.
3. Milat LJ, Whitley J, Leiper JM, Jeimes LD, Siragy MH, Carey RM, Johns RA. Evidence for Dysregulation of Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase I in Chronic Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension. Circulation 2003; 108: 1493-8.
4. Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Purification and properties of a new enzyme. NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase from rat kidney. J Bio Chem 1989; 264: 10205-9.
5. 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: 237-8.
6. Arrigoni FI, Vallance P, Haworth SG, Leiper JM. Circulation 2003; 107; 1195-201.
7. 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.
8. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular Biology of the Asymmetric Dimethylarginine: Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Pathway. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004; 24: 1023-30.
9. Hampl V, Herget J. Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension. Physiol Rev 2000; 80: 1337-72.
10. Steudel W, Hurford WE, Zapol WM. Inhaled nitric oxide: basic biology and clinical applications. Anesthesiology 1999; 91: 1090-121.
11. Shaul PW, North AJ, Brannon TS, et al. Prolonged in vivo hypoxia enhances nitric oxide synthase type I and type III gene expression in adult rat lung. Am J Respir Cell Mol Biol 1995; 13: 167-74.
12. Isaacson TC, Hampl V, Weir EK, et al. Increased endothelium-derived NO in hypertensive pulmonary

- circulation of chronically hypoxic rats. *J Appl Physiol* 1994; 76: 933-40.
13. Li D, Zhou N, Johns RA. Soluble guanylate cyclase gene expression and localization in rat lung after exposure to hypoxia. *Am J Physiol* 1999; 277: L841-L847.
 14. Adnot S, Raffestin B, Eddahibi S, et al. Loss of endothelium-dependent relaxant activity in the pulmonary circulation of rats exposed to chronic hypoxia. *J Clin Invest* 1991; 87: 155-62.
 15. Shaul PW, Wells LB, Horning KM. Acute and prolonged hypoxia attenuate endothelial nitric oxide production in rat pulmonary arteries by different mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22: 819-27.
 16. Kielstein JT, Stefanie M, Böger B, Hesse G, Lobenhoffer JM, Takacs A, Fliser D, Hoepfer MM. Asymmetrical Dimethylarginine in Idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1414-8.
 17. Yıldırım AO, Bulau P, Zakrzewicz D, Kitowska KE, Weissmann N, Grimminger F, Morty RE, Eickelberg O. Increased Protein Arginine Methylation in Chronic Hypoxia: Role of Protein Arginine Methyltransferases. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006; 35: 436-43.
 18. 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.
 19. Pullamsetti S, Kiss L, Ghofrani HA, Voswinckel R, Haredza P et al. Increased levels and reduced catabolism asymmetric dimethylarginines in pulmonary hypertension. *The FASEB Journal* 2005; 19: 1175-7.
 20. Gorenflo M, Zheng C, Werle E, Fiehn W, Ulmer HE. Plasma levels of asymmetric dimethyl-L-Arginine in Patients with Congenital Heart Disease and pulmonary hypertension. *Journal of Pharmacology* 2001; 37: 489-92.
 21. Özkan Y, Firat H, Simşek B, Torun M, Yardim-Akaydin S. Circulating nitric oxide (NO), asymmetric dimethylarginine (ADMA), homocysteine, and oxidative status in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome (OSAHS). *Sleep Breath* 2008; 12(2): 149-54.
 22. Ricciardolo FL, Nijkamp FP, Folkerts G. Nitric oxide synthase (NOS) as therapeutic target for asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Drug Targets* 2006; 7(6): 721-35.

Yazışma adresi:

Dr. Said Sami Erdem
 Kars Doğum ve Çocuk Bakımevi Laboratuvarı, Kars
 GSM : 0.506 626 71 54
 Tel : 0.474 212 56 63
 E-posta : serdem1505@yahoo.com
