

Asimetrik Dimetilarginin ve Klinik Önemi

Asymmetric Dimethylarginine and it's Clinical Significance

Özben Özden Işıklar*

Işıl Mutaf**

*Nenehatun Kadın Doğum Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Erzurum

**Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Biyokimya, İzmir

ÖZET

Asimetrik dimetilarginin (ADMA) plazmada, idrarda ve dokularda bulunan, arginine benzeyen bir aminoasittir. Proteinlerdeki arginin kalıntılarının metillenmesiyle doğal olarak oluşan ADMA ile ilgili çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Nitrik oksit sentaz'ın major inhibitörü olan ADMA kardiyovasküler risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bu derlemede ADMA'nın metabolizması, başta endotel disfonksiyonu olmak üzere çeşitli patolojilerle ilişkisi ve ölçüm yöntemleri ile ilgili bilgiler aktarılmış, klinik ve deneysel çalışmalarının sonuçları tartışılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Asimetrik dimetilarginin, nitrik oksid, endotel disfonksiyonu, kardiyovasküler risk faktörleri

ABSTRACT

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an amino acid that looks like arginine and exists in plasma, urine and tissues. ADMA occurs naturally by methylation of arginine remnants in proteins and the studies about it increases every day. ADMA, as a major inhibitor of nitric oxide sentase is accepted as cardiovascular risk factor. In this review, the knowledge about metabolism, the relation of ADMA with several pathologies, primarily endothelial dysfunction and the measurement methods were overviewed and the results of clinical and experimental studies were discussed.

Key Words: Asymmetric dimethylarginine, nitric oksid, endotel disfunction, cardiovascular risk factors

ADMA'NIN TARİHÇESİ

Asimetrik dimetilarginin (ADMA) plazmada, idrarda ve dokularda bulunan, arginine benzeyen bir aminoasittir (1). ADMA ilk olarak 1970 yılında, idrarla atılan metillenmiş argininler olarak tanımlanmıştır (2). Sonra metillenmiş argininler, hayvanların immun sistem hücrelerinde ve nöronlarında, insanların endotel hücrelerinde saptanmıştır (3). 1992 yılında Vallance ve arkadaşları da insan plazma ve idrarında endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS)'ın endojen inhibitörü olarak ADMA'nın varlığını tanımlamışlardır (4).

ADMA METABOLİZMASI

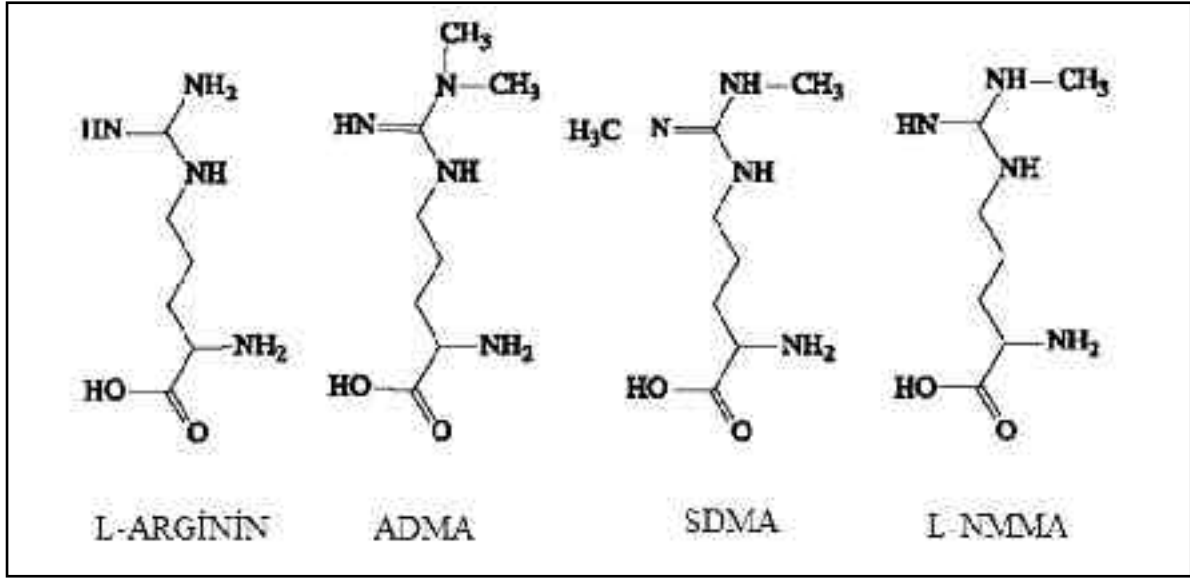
ADMA Sentezi

ADMA, metilargininler grubunda yer almaktadır. Metilargininler üç şekilde bulunur;

- Asimetrik dimetilarginin (ADMA)
- Simetrik dimetilarginin (SDMA)
- Monometilarginin (L-NMMA) (Şekil 1)

Bunlardan sadece ikisi nitrik oksid sentaz (NOS) inhibitörüdür;

- 1- N^G, N^G-dimetil-L-arginin (Asimetrik dimetil-arginin, ADMA)



Şekil 1. L-Arginin, ADMA, SDMA ve L-NMMA'nin yapısı⁵.

ADMA: Asimetrik dimetilarginin, SDMA: Simetrik dimetilarginin, L-NMMA: Monometilarginin

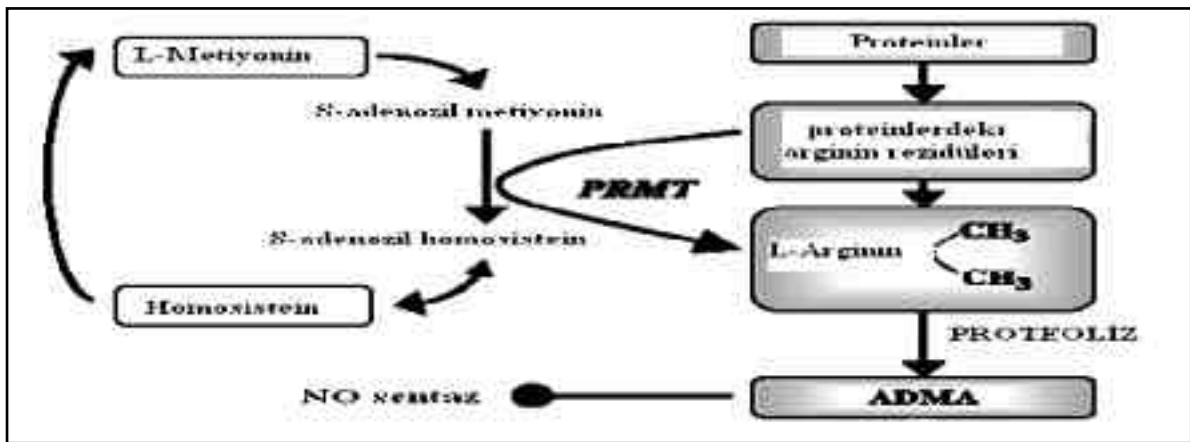
2- N^G-monometil-L-arginin (L-NMMA)

İnsanlarda plazma ADMA düzeyi, L-NMMA düzeyinden 10 kat fazladır. ADMA, nitrik oksid (NO) biyosentezinin major inhibitörüdür (6). ADMA, çoğunlukla nukleusta bulunan, metillenmiş arginin rezidüleri içeren polipeptidlerin veya proteinlerin katabolizmasından oluşur ve proteinlerin hidrolizi sonucu serbestleşir. ADMA ve L-NMMA sentezi için arginin rezidülerini metilleyen, protein arginin metiltransferaz tip I (PRMT-I) enzimi gereklidir. Metil grubu vericisi olarak S-adenozil metiyonin (SAM) kullanılır (7,8)

(Şekil 2). PRMT-I kalpte, düz kas hücrelerinde ve endotel hücrelerinde eksprese olur. Damar duvarında ADMA oluşum hızı, PRMT ekspresyonundaki değişiklikler ile düzenlenmektedir. Protein arginin metil transferaz tip II (PRMT-II) ise SDMA'nın oluşumunda görevlidir. SDMA, ADMA'nın stereoizomeridir ve NO sentezi üzerine direkt inhibitör etkisi yoktur (9).

ADMA'nın Taşınması

Metil argininler (ADMA, SDMA ve L-NMMA), kationik aminoasit taşıyıcısı olarak bilinen



Şekil 2. ADMA sentezi⁸.

PRMT: Protein arginin metil transferaz, NO: Nitrik oksit, ADMA: Asimetrik dimetilarginin

y^+ taşıyıcı sistemi ile taşınmaktadırlar. y^+ taşıyıcısı aktivitesini kaveolin bağlı NOS ile aynı yerde gösterir. y^+ taşıyıcı aktivitesi, metilargininlerin lokal konsantrasyonlarını saptamada önemli olabilir. Metilargininler, hücre içine transport için birbirleriyle ve arginin ile yarışır. ADMA'nın yüksek düzeyleri, hücre içi L-arginin transportunu potansiyel olarak engelleyebilir. L-arginin transportunda azalma ise, NO sentezinde azalma ile sonuçlanır. Transport sistemi, metilargininleri hücre içi düzeyleri dolaşımdaki düzeylerinden daha fazla olacak şekilde endotel hücreleri içinde yoğunlaştırır. y^+ taşıyıcı sisteminde herhangi bir defekt, dolaşımdaki ADMA düzeylerinde artışa neden olur. Bunun sonucu olarak da NO biyosentezinde azalma görülür. Çeşitli hastalıkların patogeneğinde y^+ taşıyıcı sistemi önemli yer tutar (9).

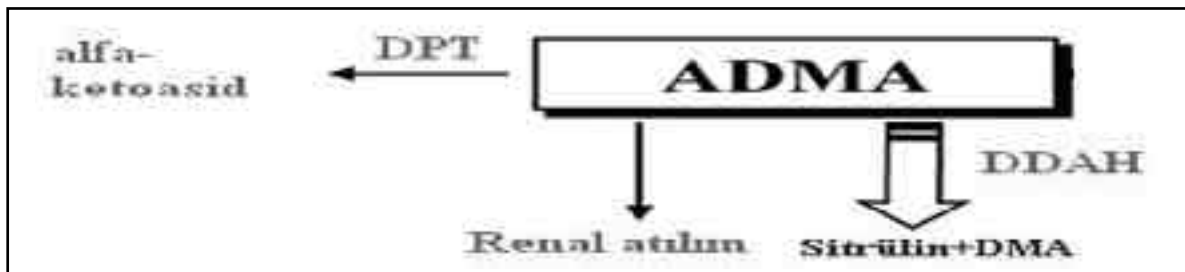
ADMA'nın Vücuttan Uzaklaştırılması

ADMA'nın katabolizmasında üç önemli yol mevcuttur: Birincisi; ADMA'nın dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından sitrülün ve dimetilaminlere yıkılmasıdır (>% 90). İkincisi; ADMA'nın değişmeden böbreklerden atılmasıdır (~%5). Üçüncüsü ise; dimetilarginin pirüvat aminotransferaz enzimi tarafından -ketoasidlere dönüştürülmesidir (<% 5) (10,11) (Şekil 3). ADMA yıkılımının düzenlenmesinde DDAH merkezi rol oynar. DDAH, böbrek, karaciğer, pankreas ve kan damarlarında eksprese olmaktadır. İki izoformu vardır: DDAH-I, tipik olarak nöronal NOS'un eksprese olduğu dokularda

bulunmaktadır. DDAH-II ise eNOS'u içeren dokularda fazla bulunmaktadır. Vücutta sürekli bir ADMA üretimi vardır. DDAH, ADMA için spesifiktir, SDMA'ı etkilemez. Birçok hastalıkta azalmış DDAH aktivitesi, dolaşımdaki ADMA düzeylerinin artışına yol açmaktadır. Hiperglisemi ve hiperkolesterolemi gibi durumlar direkt olarak ADMA birikimi ile sonuçlanan DDAH aktivitesinde azalmaya neden olurlar (12). Okside-LDL veya tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) tarafından indüklenen oksidatif stres, DDAH aktivitesini azaltır. Homosistein, redoks aracılı mekanizma ile DDAH aktivitesini azaltarak, ADMA düzeylerinin artmasına neden olur (13). NO'nun aşırı üretimi (indüklenebilir NOS artışına bağlı olabilir), DDAH'nın aktif merkezindeki sistein rezidülerinin S-nitrozilasyonuna, dolayısıyla DDAH'nın inaktivasyonuna sebep olmaktadır (5) (Şekil 4). All-trans-retinoik asidin ise, DDAH-II ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Böylece ADMA'yı azaltmak yoluyla endotel hücrelerinde NO sentezini arttırdığı gözlenmiştir (12). Östrojen veya östrojen-progesteron tedavisi DDAH aktivitesini artırarak plazma ADMA düzeylerini düşürür (14).

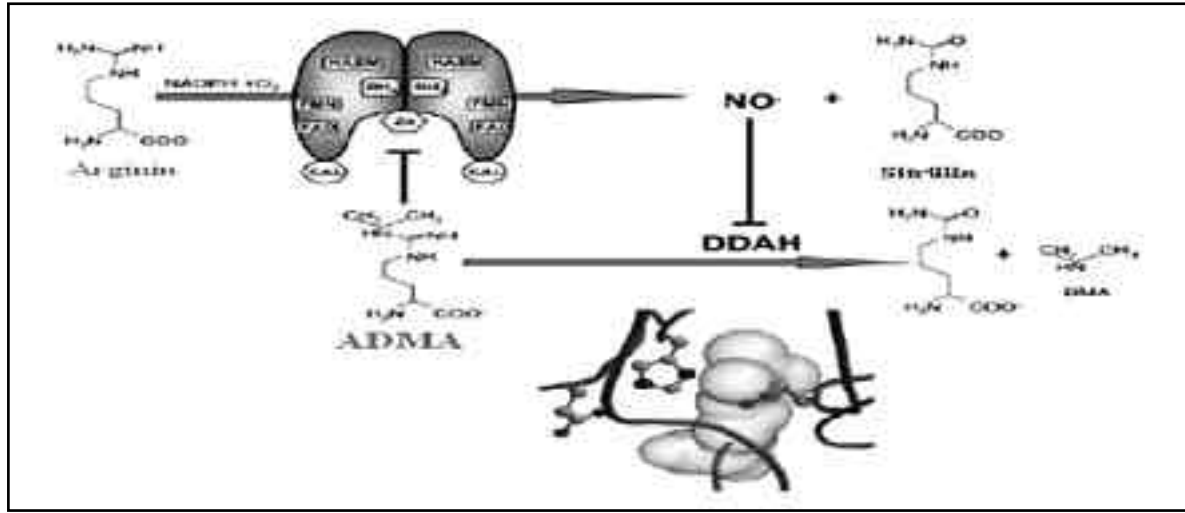
Hücre içi ADMA

ADMA hücrelerin içinde oluşur. Endotel hücrelerinde PRMT ve DDAH'nın her ikisi de eksprese olur. ADMA birikimi, DDAH inhibisyonuna yol açar. Vasküler sistemde DDAH inhibisyonu, ADMA'nın yüksek düzeyleriyle ilişkili endotel fonksiyon değişikliklerini oluş-



Şekil 3. ADMA'nın eliminasyonu.

DPT: Dimetilarginin pirüvat aminotransferaz, ADMA: Asimetrik dimetilarginin, DDAH: Dimetilarginin dimetil-amino-hidrolaz, DMA: Dimetilamin



Şekil 4. ADMA metabolizmasının NO tarafından düzenlenmesi⁵.

NADPH: Nikotinamid Adenin dinükleotid fosfat, NO: Nitrik oksit, ADMA: Asimetrik dimetilarginin, DDAH: Dimetilarginin dimetilaminohidrolaz, DMA: Dimetilamin

turur. Endotel hücrelerinden ADMA'nın dolaşıma verilmesi; arginin metilasyon hızı, metillenmiş arginin içeren proteinlerin hidroliz hızı, DDAH tarafından ADMA'nın metabolize edilme hızı ve hücrelerden aktif çıkış hızı arasında dengeye bağlıdır (15,16). Her bir komponentin önemi tam olarak anlaşılmasına karşın, DDAH'ın metabolik kapasitesi oldukça yüksektir ve dengenin devam ettirilmesinde önemli rol oynar (15). ADMA molekülü relatif olarak stabildir ve hücreler arasında diffüze olabilir. Bir hücrede oluşturulan ADMA'nın ikinci bir hücre tipinde NOS'u inhibe edebilme kapasitesi vardır. Bu etkileşim makrofajlar ve endotel hücrelerinde kesin olarak gösterilmiştir (17). ADMA NOS'un 3 izoformunu da inhibe etmektedir ancak, inhibisyon ortamdaki arginin düzeyine bağlıdır. ADMA, NO oluşumunu engellemesi yanında süperoksit anyonlarının oluşumuna da yol açar. Milimolar konsantrasyonlarda metilargininler, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz'ı inhibe edebilirler (5).

Dolaşımdaki ADMA

Sağlıklı kişilerde plazma ADMA düzeyleri 0.2-1.2 $\mu\text{mol/L}$ arasındadır. Patolojik durumlarda artış göstermektedir. Yüksek plazma ADMA düzeyleri, kardiyovasküler hastalıklar

başta olmak üzere diğer birçok hastalıkta saptanmıştır. Örneğin böbrek yetmezliğinde, metilargininlerin klirensi bozulur ve plazma ADMA ve SDMA düzeyleri artar. SDMA düzeyleri kreatinin ile paralel artış gösterir ve ADMA'dan daha yüksek düzeylere ulaşır. Çünkü ADMA, DDAH tarafından metabolize edilebilirken, SDMA sadece böbrekler yoluyla atılabilmektedir. Diğer durumlarda ise ADMA selektif olarak artış gösterir, SDMA'da değişiklik gözlenmez. PRMT-1 enzim aktivitesinin artışı ve DDAH disfonksiyonu dolaşımdaki ADMA düzeylerinde artışa neden olur (18). Her gün 260 μmol ADMA metabolize edilir ve 60 μmol ADMA idrarla atılır. ADMA'nın idrarla atılımının tamamen bozulması, plazma ADMA düzeylerinde artışa neden olur. Proteoliz artışına bağlı olarak, dokulardan plazmaya ani ADMA geçişi veya ADMA serbestleşmesinin ani artışı, plazma ADMA düzeylerinde ani değişikliklere neden olabilmektedir (19).

ADMA'NIN ÇEŞİTLİ PATOLOJİLERLE İLİŞKİSİ

Plazma ADMA düzeylerinin yüksek olarak saptandığı klinik durumlar: (5,14,20)

- Hiperkolesterolemi
- Hipertrigliseridemi

- Hiperhomosisteinemi
- Endotel disfonksiyonu
- Ateroskleroz
- İnsülin direnci
- Tip 2 diyabetes mellitus
- Hipertansiyon
- Preeklampsi
- Pulmoner hipertansiyon
- Koroner arter hastalığı
- Konjestif kalp yetmezliği
- Periferik arter hastalıkları
- Trombotik mikroanjyopati
- Kronik böbrek yetmezliği
- Erektile disfonksiyon
- Şizofreni
- İnme
- Yaşlanma
- Alzheimer hastalığı

ADMA ve Endotel Disfonksiyonu

NO vasküler homeostazda çok önemli bir yere sahiptir ve vazodilatör aktivitesinin yanı sıra, vasküler hastalıklarda anahtar rol oynayan lökosit adezyonu, trombosit agregasyonu ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunu inhibe edebilmektedir. Hayvan modellerinde vasküler NO sentezindeki değişikliklerin, ateroskleroz ve restenozun ilerlemesinde önemli etkiye sahip olduğu izlenmiştir. NOS yolunun bozulması, kardiyovasküler olaylar için bağımsız bir göstergedir. NOS'un endojen inhibitörü olarak ADMA'nın önemi, ilk defa Vallance ve arkadaşları tarafından son dönem böbrek hastalığı olan kişilerde tanımlanmıştır (1). Bu hastalarda renal klirensin azalması sonucu artmış plazma ADMA düzeyleri diyaliz ile düşürülerek endotel fonksiyonunda düzelme sağlanmıştır. Daha sonraki çalışmalarda, artmış ADMA düzeyleri ile endotel vazodilatör disfonksiyon arasında ilişki bir çok kez ortaya konmuştur.

Hiperkolesterolemik erişkinlerde yüksek ADMA düzeyleri ile endotel bağımlı vazodilatasyon arasında ters korelasyon gösterilmiştir.

Hiperkolesterolemik kişilerde intravenöz arginin infüzyonu, endotel fonksiyonunu onarır ve üriner nitrat ekskresyonunu artırır. ADMA argininin kompetitif inhibitörüdür ve argininin tüm bu etkilerini inhibe edebilir (13).

İnsanlarda plazma ADMA düzeyleri, hızla değişebilir. Bu da endotel vazodilatör fonksiyondaki değişiklikler ile ilişkilidir. ADMA günümüzde endotel disfonksiyonu için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (14).

ADMA'nın Kardiyovasküler Etkileri

ADMA, NOS inhibisyonu yoluyla NO düzeyini azaltarak, endotel bağımlı gevşemeyi bozar ve kan basıncını yükseltir. NOS inhibisyonu böbrekleri de etkileyerek sodyum ekskresyonunun azalmasına neden olur. Vücutta sodyum tutulumunun artışı, hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır (21).

ADMA'ya uzun süre maruz kalma, ateroskleroza neden olur ve hedef organlarda hipertansiyon hasar oluşturur. ADMA tarafından uzun süre NOS inhibisyonu, sol ventrikül hipertrofisine yol açabilir. ADMA, kalp hızını ve kardiyak output'u düşürür (22). ADMA'nın intrarteriyel infüzyonu lokal vazokonstriksiyona neden olurken, sistemik infüzyonu sistemik vasküler rezistansı artırır ve renal fonksiyonu bozar. Deneysel ve klinik çalışmalarda ADMA düzeylerindeki küçük değişikliklerin bile vasküler NO üretiminde, vasküler tonusta ve sistemik vasküler dirençte anlamlı değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (20).

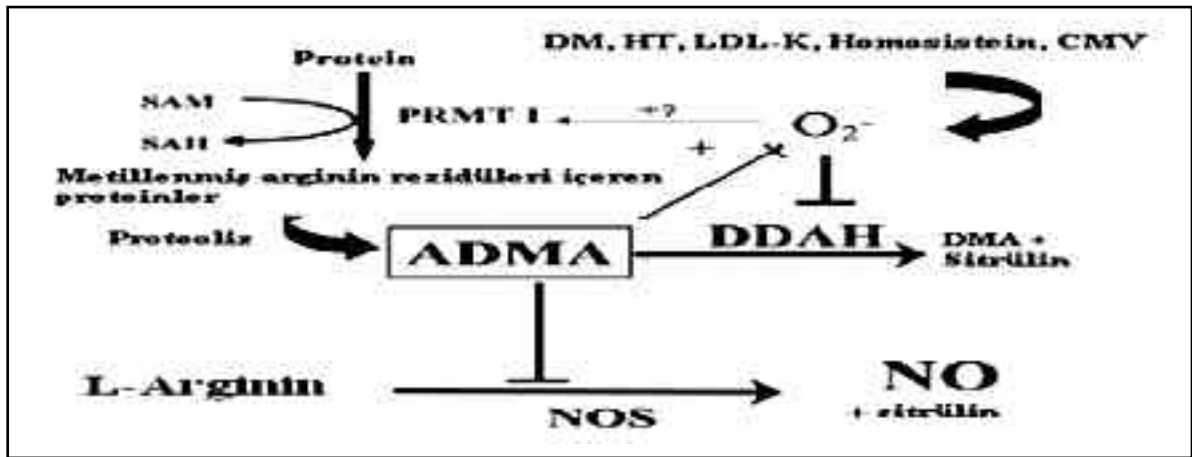
ADMA, hayvan modellerinde, anjiogenezi inhibe eder. Kültür hücrelerinde ve deneysel tümör hücrelerinde DDAH'nın aşırı ekspresyonu, anjiogenik olayların başlamasına neden olmaktadır. DDAH'nın aşırı ekspresyonu, vasküler endotelial büyüme faktörü ekspresyonunda artışa neden olur ve bunun anjiogenezin ilerlemesinde önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (23). ADMA düzeyindeki artışlar, kardiyovasküler riskteki artışa önemli katkıda bulunmaktadır. Hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi, hipertansiyon,

insülin direnci, diya bet, hiperhomosisteinemi gibi koroner kalp hastalığına risk oluşturan durumlarda ve aterosklerotik hastalıklarda ADMA düzeylerinin artmış olduğu saptanmıştır (5,13). Hücre kültürlerinde LDL'nin de DDAH aktivitesi ve PRMT ekspresyonunu etkilediği gösterilmiştir (24). Klinik olarak sağlıklı 116 kişide yapılan çalışmada yüksek ADMA düzeyleri ile karotid arter intima-media kalınlığı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (25). Orta yaşlı 150 kişiyi içeren çalışmada yüksek ADMA düzeylerinin, akut koroner hastalık riskini 3.9 kat artırdığı gösterilmiştir (26). Yine yüksek ADMA düzeylerine sahip hastalarda, çeşitli kardiyovasküler komplikasyon gelişme riskinin artmış olduğu bulunmuştur. Bu bilgilerin ışığında ADMA yeni bir kardiyovasküler risk faktörü olarak tanımlanmaktadır (14).

ADMA ve Oksidan Stres

Çeşitli deneysel hayvan modellerinde ve hastalıklarda artmış ADMA düzeyi, artmış oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu arasında anlamlı ilişkiler saptanmıştır. Endotel hücre kültürlerinde veya endotel disfonksiyonu olan hastalarda artmış ADMA düzeyleri, artmış reaktif oksijen türlerinin üretimi ile ilişkilidir. ADMA'nın vasküler süperoksid

düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (27). Endotel hücre kültürlerinde ADMA sentezinde görevli olan PRMT enziminin gen ekspresyonu, LDL ve okside LDL tarafından konantrasyon bağımlı olarak artırılır. Hastalarda metiyonin ve homosistein düzeylerindeki artış, ADMA düzeylerinde yükselişe neden olur. Sydow ve arkadaşları, hiperhomosisteinemi hastalarda lipid peroksidasyonu için oldukça spesifik gösterge olan 8-izo-prostaglandin F₂'nin üriner ekskresyonunun artmış olduğunu göstermişlerdir. L-arginin verilmesi ile endotel disfonksiyonun düzeldiği ve eş zamanlı olarak 8-izo-prostaglandin F₂'nin üriner atılımının azaldığı görülmüştür (27). Oksidatif stres, ADMA yıkımında görevli enzim olan DDAH'nın aktivitesini azaltır. Okside LDL, inflamatuvar sitokinler, hiperhomosisteinemi, hiperglisemi, hipertansiyon ve CMV gibi ajanlar süperoksid anyon oluşumunu artırarak endotelial oksidatif stresin artışına neden olur (14) (Şekil 5). DDAH enziminin aktif merkezindeki reaktif sistein rezidülerinin varlığı, bu enzimi süperoksid gibi reaktif oksijen türleri tarafından oksidasyona veya S-nitrozilasyona uygun hale getirir. Oksidasyon ve S-nitrozilasyon sonucu enzim aktivitesi azalır. Endotel hücre kültürlerinde glukoz etkisiyle



Şekil 5 . ADMA ve oksidan stres¹⁴.

SAM: S-adenozil metiyonin, SAH: S-adenozil homosistein, PRMT I: Protein arginin metiltransferaz I, DM: Diyabete Mellitus, HT: Hipertansiyon, LDL-K: Düşük yoğunluklu kolesterol, CMV: Sitomegalovirus, ADMA: Asimetrik dimetilarginin, DDAH: Dimetilarginin dimetilaminohidrolaz, DMA: Dimetilamin, NOS: Nitrik oksit sentaz, NO: Nitrik oksit

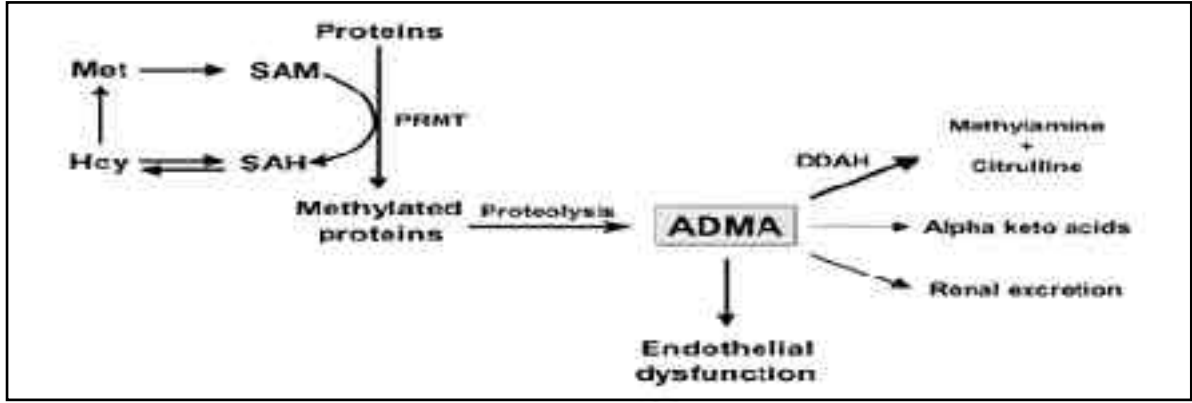
DDAH aktivitesinin bozulması ve ardından artmış ADMA düzeyleri, antioksidanlar tarafından inhibe edilmiştir. Endotel hücrelerde homosistein ile inkübasyondan sonra ADMA düzeyleri artmış, DDAH aktivitesi azalmıştır. Ardından bir antioksidan olan pirolidin ditiyokarbamat verildiğinde DDAH aktivitesi düzelmiş, ADMA birikimi azalmıştır. Sonuç olarak oksidatif stresin ADMA üretimini uyarması ve/veya ADMA yıkımını inhibe etmesi, eNOS aktivitesini anlamlı derecede azaltır (27).

ADMA ve Hiperhomosisteinemi

Homosistein ile ADMA arasındaki ilişki çeşitli potansiyel etkileşimlere dayanır. Homosisteinin ADMA'nın yıkımında görevli enzim olan DDAH'ın aktif merkezindeki sistein rezidüleri ile etkileşime girerek DDAH aktivitesini inhibe ettiği öne sürülmektedir (5). Bu görüşe göre homosistein enzimin katalitik merkezindeki sülfhidril grupları ile disülfid bağları kurarak, DDAH üzerinde oksidatif atak oluşturur ve enzim aktivitesini azaltır (28). Bunun yanında homosistein, ADMA sentez yolağındaki metilasyon siklusunun bir parçasıdır. SAM arginin metilasyonunu sağlayan metil donörüdür ve S-adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. SAH da homosisteine çevrilir (29). Artmış SAM bağımlı protein metilasyonunun hem ADMA hem de homosistein üretimini arttırdığı yönündeki hipotezi desteklemek üzere yapılan bir çalışmada, metiyoninden zengin folat'dan fakir hiperhomosisteinamik diyetle beslenen maymunlarda plazma ADMA ve homosistein düzeylerinin üç kat arttığı gözlemlenmiştir. Bu maymunlarda ADMA düzeyleri homosistein düzeyleri ile güçlü bir şekilde uyumlu bulunmuştur. Oral metiyonin yüklemesinden 8 saat sonrasında plazma ADMA ve homosistein konsantrasyonlarının arttığı, brakial arterde akım bağımlı dilatasyonun %80 oranında azaldığı görülmüştür. Brakial arter dilatasyonu ADMA konsantrasyonları ile ters korele iken L-Arginin/ADMA oranı ile direkt korele bulunmuştur (30). Homosistein ve ADMA

arasındaki metabolik ilişkiye ait deliller hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. İnsan endotel hücre kültürü ortamının L-metiyonin veya homosistein ile inkübasyonu ADMA üretimini arttırmıştır (30). Koroner arter hastalığı, periferik arter hastalığı, inme ve Alzheimer hastalığı bulunan kişilerde hiperhomosisteinemi ve artmış plazma ADMA konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren vaka-kontrol çalışmaları bulunmasına rağmen bazı çalışmalarda da bu ilişki saptanamamıştır. "Homosistein ve asimetrik dimetilarginin ilişkisinde diğer değişkenlerin rolü" isimli 75 KAH hastasında yapılan tez çalışmasında hastalar homosistein düzeylerine göre düşük, orta, yüksek olmak üzere üç gruba ayrıldı. Yaş, cinsiyet, Body mass indeks (BMI: kg/m²), Gensini skoru, Kan basıncı, AMI geçirme öyküsü, Anjioplasti öyküsü, koroner bypass öyküsü, periferik arter hastalığı öyküsü, İnme öyküsü, Tip II DM öyküsü, sigara kullanımı, ilaç kullanımı (ACE inh, ARB, Nitrat vb.)'nin yer aldığı demografik ve klinik değişkenler ile Total kolesterol, HDL-K, LDL-K, Trigliserit, açlık kan glukozu, HOMA-İR indeksi, kreatinin, MDRD-eGFR, hs-CRP, Pro-BNP ve nitrat'ın yer aldığı laboratuvar değişkenlerinin tertillerin ADMA konsantrasyonları üzerinde etkisinin anlamlı olmadığı saptanırken plazma ADMA konsantrasyonlarını etkileyen en önemli faktörün plazma homosistein düzeyleri olduğu tespit edilmiştir (31).

Toplamda bu bulgular, hiperhomosisteinemin plazma ADMA konsantrasyonlarını arttırdığına dair güçlü deliller sağlamakta ve ADMA'nın NO biyoyararlanımını bozduğu hipotezini desteklemektedir. Ancak hiperhomosisteineminin ADMA'yı nasıl arttırdığı tam olarak bilinmemektedir. Dayal S. ve arkadaşları başlangıçta yüksek metiyoninli beslenme gibi homosistein üretiminin arttığı durumlarda, SAM'ın intrasellüler konsantrasyonunun artabileceği ve SAM bağımlı PRMT aktivitesinin yükselerek ADMA üretimini arttırabileceği hipotezini ortaya atmışlar. Ancak bu mekanizma olası gi bi görünmemektedir



Şekil 6. Homosistein ve ADMA arasındaki metabolik ilişki³².

SAM: S-adenozil metiyonin, SAH: S-adenozil homosistein, Hcy: Homosistein, Met: Metiyonin, PRMT: Protein arginin metiltransferaz, ADMA: Asimetrik dimetilarginin, DDAH: Dimetilarginin dimetilaminohidrolaz.

çünkü, hiperhomosisteinemi SAM'ın değil SAH'ın doku düzeylerinin artışı tipiktir. Bununla beraber hiperhomosisteinemi SAM aracılığıyla PRMT aktivitesi artmasa da muhtemelen PRMT ekspresyonunun upregülasyonu meydana gelmektedir (Şekil 6) (32).

Andrade F. ve arkadaşları renal transplantlı 26 çocuk ve adolanda, kontrollerle göre homosistein, SAH ve ADMA konsantrasyonları önemli ölçüde yüksek saptarken, SAM/SAH ve arjinin/ADMA oranlarını önemli ölçüde düşük bulmuşlardır (33). Bu olgularda hiperhomosisteinemi ve ADMA yüksekliğinin olası mekanizmasının azalmış renal ekskresyon olduğunu ileri sürmüşlerdir.

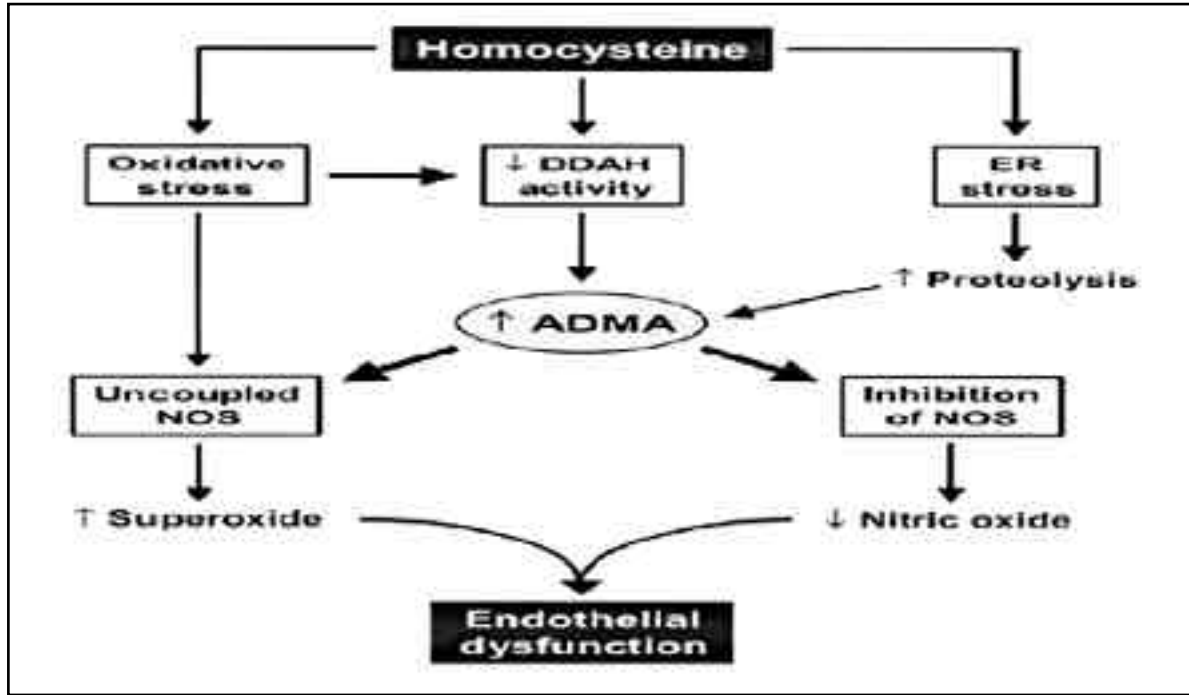
Homosistein, in-vitro olarak gösterilen DDAH aktivitesi inhibisyonunu muhtemelen DDAH'nın aktif bölgesindeki sistein kalıntılara oksidatif etki yoluyla yapmaktadır. Homosistein ve DDAH arasındaki bu reaksiyonun in-vivo oluşumu henüz ispatlanamamıştır (34). Homosistein DDAH'nın aktif bölgesindeki sistein kalıntısı ile direkt kimyasal reaksiyona girerek veya oksidatif strese neden olarak DDAH'yı inhibe edebilir ve bunun sonucunda ADMA düzeyinde artışa neden olabilir. Alternatif olarak, endoplazmik retikulum stres yolu (homosisteinin içerdiği reaktif tiyol grupları sayesinde disülfid değişim reaksiyonlarına katılarak endoplazmik retikulumda yeni protein sentezi ve katlanması işlemini bozması)

metilarginin kalıntıları içeren proteinlerin artmış proteolizine yol açarak ADMA düzeylerini artırabilir. ADMA veya peroksinitrit gibi oksidanlar eNOS'un uncoupling'ine neden olarak süperoksit üretimini hızlandırabilir ve NO'nun biyoyararlılığını daha da azaltabilir (32,35).

Sonuçta; insan ve hayvan hücre kültüründe yapılan son zamanlardaki çalışmaların tümü homosistein ile ADMA arasındaki metabolik ilişkiye işaret etmektedir. Bu gözlemler, hiperhomosisteinemi esnasındaki vasküler patolojilerin ADMA üzerinden gerçekleştiğini önermektedir (Şekil 7).

ADMA, Obezite ve Sigara Kullanımı

Obez kişilerde, vücutta adiposit sayısı artmıştır. Adipoz hücreler IL-6, TNF- gibi proinflatuvar sitokinleri aktif olarak sekrete edebilmektedir. Bu sitokinlerin varlığında NO, peroksinitrit anyonlarına (ONOO) dönüşmektedir. Peroksinitrit, proteinlerin ve enzimlerin nitrozilasyonuna ve nitrozatif stres oluşumuna neden olur. DDAH enziminin aktif merkezindeki reaktif sistein rezidülerinin varlığı, bu enzimi S-nitrozilasyona uygun hale getirir. DDAH aktivitesinin azalması, ADMA birikimine yol açar. Obez kişilerde NO düzeyi hem sentezin azalması, hem de tüketimin artması sebebiyle azalmıştır (36,37). Kronik sigara tiryakilerinde, monosit-makrofajlar tarafından IL-1, IL-6 ve TNF- gibi proinflama-



Şekil 7. Homosisteinin neden olduğu endotel disfonksiyonu ve ADMA'nın olası rolü³².

DDAH: Dimetilarginin dimetilaminohidrolaz, ER: Endoplazmik Retikulum, ADMA: Asimetrik dimetilarginin, NOS: Nitrik osit sentaz.

tuvar sitokinlerin sentezi arttığından obezite tedekine benzer bir mekanizmayla ADMA düzeylerinin yükselmesi ve NO düzeyleri azalması söz konusudur (36,367). Ancak sigaranın ADMA üzerine etkisi tartışmalıdır. Eid ve arkadaşlarının obezite, sigara içimi ve ADMA düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmada en az 25 yıllık sigara içme öyküsü bulunan kişiler, sigara içmeyen kişilerle karşılaştırıldığında ADMA düzeylerinin daha düşük, L-arginin/ADMA oranının ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir (36). Lenzen ve arkadaşlarının yapmış oldukları CARDIAC çalışmasında; sigara içenlerde daha önce hiç sigara içmeyen göre ADMA düzeyleri önemli derecede daha düşük saptanırken, eski sigara içicilerinde ADMA düzeylerini yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda iki grup arasında L-arginin/ADMA oranları arasında da farklılık saptanmış ve bu oran sigara içicilerinde yüksek, eski içicilerde düşük olarak bulunmuştur (38). Onat A. ve arkadaşlarının "Türk'lerdeki serum ADMA düzeyleri, kadında metabolik sendromla ilişkisi ve sigara içici-

lerde düşük düzeylere eğilim" isimli çalışmalarında ADMA düzeyleri; hiç sigara kullanmamış olanlara göre erkek sigara içicilerde %20 ve kadın içicilerde ise %6 daha düşük bulunmuştur (39).

ADMA ve İnsülin Direnci

ADMA ile insülin direnci arasındaki ilişki oldukça komplekstir. Normal kişilerde postprandiyal hiperinsülinemi, parasempatik refleks aktivasyonunu sağlayarak asetilkolin serbestleşmesine neden olur. Asetilkolin, hepatik muskarinik reseptörlere bağlanarak NO sentezini uyarır. Nöronal kökenli NO, anterior hepatik plexus duysal liflerini aktive ederek nöropeptidlerin salınımına neden olur. Nöropeptidler, sistemik sirkülasyona verilerek iskelet kaslarını sensitize eder ve insülinin hipoglisemik etkilerine aracılık eder. Oksidatif stres gibi çeşitli nedenlerle ADMA düzeylerinin yükselmesi, nöronal NOS'u inhibe ederek postprandiyal insülin duyarlılığını bozmaktadır. ADMA tarafından eNOS'un da inhibisyonu, endotel disfonksiyonuna ve

nuna karşın NOS aktivitesindeki azalma, bu hastalarda NOS enziminin disfonksiyonel olması ile açıklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda pulmoner hipertansiyonu olanların akciğer dokusunda ADMA düzeyinin 2 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Pulmoner hipertansiyonlu sıçanlarda DDAH ekspresyon ve aktivitesinin anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. L-arginin suplementasyonu, primer ve sekonder pulmoner hipertansiyon hastalarında pulmoner arter basıncını ve hemodinamiğini düzeltmektedir. L-arginin verilmesi ile hem argininin taşınmasında ADMA'nın kompetitif inhibisyonu engellenmekte, hem de NO sentezi artmaktadır (46,47).

ADMA ve Konjestif Kalp Yetmezliği

Konjestif kalp yetmezliğinde (KKY), TNF- ve okside-LDL düzeyleri artmıştır. TNF- ve okside-LDL, DDAH-II aktivitesini azaltan oksidan stresi indüklemektedir. TNF- ve okside-LDL düzeylerindeki artışa bağlı ADMA metabolizmasının azalması, KKY'de ADMA düzeylerindeki selektif artışı açıklamaktadır. ADMA, endotelial oksidan stresi ve endotelial adezyon moleküllerini kodlayan redoks sensitif genlerin ekspresyonunu artırır (47). Usui ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada plazma ADMA düzeylerinin, KKY'de arttığını ve KKY'nin şiddeti ile pozitif korelasyon gösterdiğini gözlemlemişlerdir (48). Saitoh ve arkadaşları da kronik KKY olan hastaların akut alevlenme dönemlerinde plazma ADMA düzeylerinin yükseldiğini saptamışlardır. Oksidan stres, kronik kalp yetmezliğinin akut alevlenme dönemlerindeki ADMA artışına katkıda bulunmaktadır (47).

KKY'de plazma ADMA düzeyleri, KKY'de görülen azalmış renal plazma akımının ve artmış renovasküler direncin bağımsız göstergesidir. ADMA endotel disfonksiyonu arttırarak, renovasküler tonusta artışa neden olmaktadır (49). Sonuç olarak ADMA; KKY'nin patogeneğinde, semptomatik dönemlerinde ve hastalığın şiddetinde önemli rol oynamaktadır.

ADMA ve Kronik Böbrek Hastalıkları

Kronik böbrek hastalarında plazma ADMA düzeyleri yükselmekte ve plazma kreatinin ile ADMA düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon görülmektedir. Renal nNOS makula densada oldukça fazla miktarda bulunur ve GFR'nin düzenlenmesinde vazodilatör rol oynar. ADMA, renal korteks ve medulladaki NOS aktivitesini azaltmaktadır. Renal kortikal nNOS'ta azalma, renal vazokonstrüksiyona ve GFR'de bozulmaya sebep olur. Ayrıca NO'nun azalmasına bağlı NO'nun "antigrowth, antifibrotik" etkilerinin kaybı yapısal hasarın gelişmesine büyük oranda katkıda bulunur (50). ADMA artışı, son dönem böbrek hastalarında, kardiyovasküler hastalık ve mortalite riskinin bağımsız göstergesidir. Plazma ADMA düzeylerindeki 2 µmol/L'lik artış kardiyovasküler hastalık riskini %37 oranında arttırmaktadır (51). Hemodiyaliz sırasında SDMA'nın 130 µmol kadarı temizlenirken, ADMA'nın sadece 35 µmol'ü klirensedilmektedir. ADMA'nın hemodiyaliz klirensinin kötü olmasının nedeni, plazmada proteinlere bağlı olmasıdır. Bu nedenle diyaliz gerektiren hastalarda kardiyovasküler hastalık riski, morbidite ve mortalite riski daha fazla artmıştır (50).

ADMA'nın yapısal izomeri olan SDMA büyük ölçüde metabolize olmaz ve plazma konsantrasyonları kreatinin ile koreledir. ADMA ise dimetilaminohidrolazlar (DDAH I ve II) ile dimetilamin ve sitriline metabolize edilir. Son dönem böbrek hastalığı olan olgularda artmış plazma ADMA konsantrasyonlarının azalmış üriner ekskresyondan kaynaklandığı varsayılırken, inulin klirensi ile GFR'lerinin normal olduğu gösterilen böbrek hastalığı yeni başlayan olgularda dikkate değer bir şekilde ADMA konsantrasyonlarını arttığı saptanmıştır. ADMA düzeylerinin renal hastalığın tipinden ve GFR'den bağımsız olarak yükselmesi, renal hastalığı olan kişilerde ADMA düzeyleri artışının renal ekskresyondan ziyade ADMA'nın renal DDAH ile yıkılmasının azalmasından kaynaklanabileceği görü-

şüne yol açmıştır (52). DDA H glomerül içindeki endotel hücrelerinde, renal damarlar da ve özellikle renal tubuler hücrelerde bol miktarda bulunur (52).

ADMA ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Kardiyovasküler risk göstergesi olarak ADMA'nın tayini, hızlı ve ucuz olmalıdır. ADMA tayin yöntemlerinden biri HPLC'dir. Bu yöntemde öncelikle plazma ve idrar matriksinden analitlerin ekstraksiyonu gerekmektedir. Bu metodun avantajları; ADMA için spesifik olması, SDMA veya L-NMMA ile çapraz reaksiyon göstermemesi, düşük saptama limitine ve sonuçların yüksek tekrarlanabilirliğe sahip olmasıdır. Dezavantajları ise zahmetli ve yüksek maliyetli olmasıdır. Ayrıca HPLC her laboratuvar da bulunabilecek bir yöntem değildir. ADMA tayininde rutin olarak kullanılabilinecek bir yöntem ise ELISA'dır. Bu yöntemde spesifik poliklonal antikorlar kullanılmaktadır. Avantajları; kolay uygulanabilir ve ADMA tayini için sensitif olmasıdır. Dezavantajı ise, tekrarlanabilirliğinin HPLC kadar iyi olmaması, poliklonal antikorların SDMA veya L-NMMA ile çapraz reaksiyon vermesidir. Fakat bu çapraz reaksiyon %5'in altındadır (53-55).

SONUÇ

Vasküler yapının ve tonusunun sürdürülmesinde endotelin kritik rol oynadığı hususunda çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Endotel kökenli vazoaktif mediatörlerden biride L-argininden nitrik osit sentaz (NOS) tarafından oluşturulan nitrik oksit (NO) dir (56). NO kardiyovasküler sistemde, vasküler tonus (endotel bağımlı vazodilatasyonun ana mediyatörü), vasküler yapı (düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu), kan damarlarında hücre-hücre etkileşimi (trombosit adezyonunun ve agregasyonunun inhibisyonu, monosit adezyonunun inhibisyonu) gibi çeşitli düzenleyici mekanizmalardan sorumludur. Bu sebeplerden dolayı NO antiaterojenik molekül olarak tanımlanmaktadır (56). Asi-

metrik dimetilarginin (ADMA) NOS'un endojen kompetatif inhibitörüdür. ADMA patofizyolojik durumlarda vasküler NO üretimini inhibe eder. Artmış ADMA seviyeleri NO sentezini azaltarak endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına neden olur. ADMA, çoğunlukla nukleusta bulunan, metillenmiş arginin rezidüleri içeren polipeptidlerin veya proteinlerin katabolizmasından oluşur ve proteinlerin hidrolizi sonucu serbestleşir. ADMA ve L-NMMA sentezi için arginin rezidülerini metilleyen, protein arginin metiltransferaz tip I (PRMT-I) enzimi gereklidir. Metil grubu vericisi olarak S-adenozil metiyonin (SAM) kullanılır (7,8). ADMA, dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) tarafından sitrülin ve dimetilamine hidrolitik degradasyon yoluyla metabolize olmaktadır. Plazma ADMA seviyeleri hiperkolesterolemi (57), hiperhomosisteinemi (58), diyabetes mellitus (59), periferik arter hastalığı (60), hipertansiyon (61,62), kronik kalp yetmezliği (48), koroner kalp hastalığı (63) bulunan hastalarda artmış olarak saptanmıştır. Birkaç prospektif ve kesitsel çalışmada ADMA kardiyovasküler riskin bir belirteci olarak tanımlanmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde ADMA'nın rolü ile ilgili artan bilgiler onu yeni tedavi stratejilerinin hedefi haline getirmiştir. Bu stratejiler arasında yüksek ADMA seviyeleri bulunan kişilere L-arginin verilmesi (ADMA'nın yanışmalı inhibitörü), ADMA'yı metabolize eden DDAH enzim aktivitesinin artırılması, DDAH'yı kodlayan genlerin ekspresyonunun artırılması veya ADMA'nın oluşundan sorumlu protein arginin metil transferaz enzim aktivitesinin baskılanması sayılabilir.

Sonuç olarak; ADMA'nın kardiyovasküler hastalıkların patogeneğindeki rolü üzerindeki bilgilerimiz arttıkça yeni tedavi stratejileri geliştirilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. 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: 572-6.

2. Kakimoto Y, Akazawa S. Isolation and identification of NG, NG-, and NG, N'-G-dimethyl-arginine, N-mono, di, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl-, and galactosyl- -hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem* 1970; 245: 5751-8.
3. Kimoto M, Tsuji H, Ogawa T, Sasaoka K. Detection of NG NG dimethylarginine dimethylaminohydrolase in the nitric oxide generating systems of rats using monoclonal antibody. *Arch Biochem Biophys* 1993; 300: 657-62.
4. Vallance P, Leone A, Calver A, et al. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20: 60-2.
5. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1023-30.
6. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2032-7.
7. Ghosh SK, Paik WK, Kim S. Purification and molecular identification of two protein methylases I from calf brain: myelin basic protein- and histone-specific enzyme. *J Biol Chem* 1988; 263: 19024-33.
8. Valkonen V.P, Laaksonen R. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clinica Chimica Acta* 2004; 348: 9-17.
9. McDonald KK, Zharikov S, Block ER, Kilberg MS. A caveolar complex between the cationic amino acid transport I and endothelial nitric oxide synthase may explain the 'arginine paradox'. *J Biol Chem* 1997; 272: 31213-6.
10. 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.
11. Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Dimethylarginine: pyruvate aminotransferase in rats. Purification, properties, and identify with alanine: glyoxylate aminotransferase 2. *J Biol Chem* 1990; 265: 20938-45.
12. Chan NN, Chan JC. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome?. *Diabetologia*. 2002; 45(12): 1609-16.
13. Böger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003; 59(4): 824-33.
14. Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? *Circulation* 2004; 109: 1813-8.
15. MacAllister R, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell R, Hodson H, Whitley G, Vallance P. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1533-40.
16. Teerlink T, Luo Z, Palm F, Wilcox CS. Cellular ADMA: Regulation and action. *Pharmacol Res* 2009; 60(6): 448-60.
17. Fickling SA, Holden DP, Cartwright JE, Nussey SS, Vallance P, Whitley G. Regulation of macrophage nitric oxide synthesis by endothelial cells: a role for NG, NG dimethylarginine. *Acta Physiol Scand* 1999; 167: 145-50.
18. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "L-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J Nutr* 2004; 134: 2842-7.
19. Achan V, Broadhead M, Malaki M et al. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolised by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1455-9.
20. Böger RH, Ron ES. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern Med Rev* 2005; 10(1): 14-23.
21. Ruilope LM, Lahera V, Rodicio JL, Romero JC. Participation of nitric oxide in the regulation of renal function: possible role in the genesis of arterial hypertension. *J Hypertens* 1994; 12: 625-31.
22. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Boger SM, Tsikas D, Frolich JC, Hoepfer MM, Haller H, Flisher D. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004; 109: 172-7.
23. Smith CI, Birdsey GM, Anthony S, Arrigoni FI, Leiper JM, Vallance P. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity modulates ADMA levels, VEGF expression, and cell phenotype. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 308: 984-9.
24. Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, Tsikas D, Bode-Boger SM. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 2000; 87: 99-105.
25. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141-1146.
26. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001; 358: 2127-8.
27. Sydow K, Munzel T. ADMA and oxidative stress. *Atheroscler (Suppl.)* 2003; 4(4): 41-51.
28. Stuhlinger MC, Oka RK, Graf EE, Schmolzer I, Upson BM, Kapoor O, Szuba A, Malinow MR, Wascher TC, Pachinger O, Cooke JP. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia: role of

- asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2003; 108(8): 933-8.
29. MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1533-40.
30. Böger RH, Lentz SR, Bode-Böger SM, Knapp HR, Haynes WG. Elevation of asymmetric dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Clin Sci* 2001; 100: 161-7.
31. İşıklar ÖÖ. Homosistein ve asimetric dimetilarginin ilişkisinde diğer değişkenlerin rolü. Uzmanlık tezi. Tez No: 175703. 2008.
32. Dayal S, Lentz SR. ADMA and Hyperhomocysteinemia. *Vascular Medicine* 2005; 10: 27-33.
33. Andrade F, Rodríguez-Soriano J, Prieto JA, Aguirre M, Ariceta G, Lage S, Azcona I, Prado C et al. Methylation cycle, arginine-creatine pathway and asymmetric dimethylarginine in paediatric renal transplant. *Nephrol Dial Transplant* 2010 Jul 6. (Epub ahead of print)
34. 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.
35. Kuzkaya N, Weissmann N, Harrison DG, Dikalov S. Interactions of peroxynitrite, tetrahydrobiopterin, ascorbic acid, and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 2005; 278: 22546-54.
36. Eid HM, Arnesen H, Hjerkin EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism* 2004; 53(12): 1574-9.
37. J Zsuga, R Gesztelyi, J Török, S Keki, D Bereczki. Asymmetric dimethylarginine: A molecule responsible for the coexistence of insulin resistance and atherosclerosis via dual nitric oxide synthase inhibition. *Medical Hypotheses* 2005; 65: 1091-8.
38. Lenzen H, Tsikas D, Böger R.H. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and the risk for coronary heart disease: the multicenter CARDIAC study. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 45-9.
39. Onat A, Hergenç G. Serum asymmetric dimethylarginine levels among Turks: association with metabolic syndrome in women and tendency to decrease in smokers. *Türk Kardiyol Dern Ars* 2008; 36(1): 7-13.
40. Sonmez A, Celebi G, Erdem G, Tapan S, Genc H, Tasci I ve ark. Plasma apelin and ADMA Levels in patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2010; 32(3): 179-83.
41. Xia W, Feng W, Guan M, Yu Y, Li J, Qu X. Increased levels of asymmetric dimethylarginine and C reactive protein are associated with impaired vascular reactivity in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2010; 32(1): 43-8.
42. Sasser JM, Moninga NC, Cunningham MW Jr, Croker B, Baylis C. Asymmetric dimethylarginine in angiotensin II-induced hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298(3): 740-6.
43. Wang D, Strandgaard S, Iversen J, Wilcox CS. Asymmetric dimethylarginine, oxidative stress, and vascular nitric oxide synthase in essential hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 296(2): R195-200.
44. Schlaich MP, Parnell MM, Ahlers BA, Finch S, Marshall T, Zhang WZ, Kaye DM. Impaired L-arginine transport and endothelial function in hypertensive and genetically predisposed normotensive subjects. *Circulation* 2004; 110(24): 3680-6.
45. Cooke JP. A Novel Mechanism for Pulmonary Arterial Hypertension?. *Circulation* 2003; 108: 1420-1.
46. LJ Millat, GS Whitley, D Li, et al. Evidence for Dysregulation of Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase I in Chronic Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension. *Circulation* 2003; 108: 1493-8.
47. Saitoh M, Osanai T, Kamada T, Matsunaga T, Ishizaka H, Hanada H, Okumura K. High plasma level of asymmetric dimethylarginine in patients with acutely exacerbated congestive heart failure: role in reduction of plasma nitric oxide level. *Heart Vessels* 2003; 18(4): 177-82.
48. Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci* 1998; 62(26): 2425-30.
49. Wagner L, Riggleman A, Erdely A, Couser W, Baylis C. Reduced nitric oxide synthase activity in rats with chronic renal disease due to glomerulonephritis. *Kidney Int* 2002;62(2):532-6.
50. Böger RH, Zoccali C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atherosclerosis (Suppl.)* 2003; 4(4): 23-8.
51. Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase predicts mortality in end stage renal disease. *Lancet* 2005; 358: 2113-7.
52. Fliser D, Kielstein JT. Asymmetric dimethylarginine: A cardiovascular risk factor in renal disease? *Kidney International* 2003; (63)84: 37-40.
53. Böger RH, et al. Elevated levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a marker of cardiovascular disease and mortality. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43(10): 1124-9.

54. Schulze F, Wesemann R, et al. Determination of asymmetric dimethylarginine (ADMA) using a novel ELISA assay. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42(12): 1377-85.
55. Siroka R, Trefil L, et al. Asymmetric dimethylarginine-comparison of HPLC and ELISA methods. *Journal of Chromatography* 2007; B 850: 586-7.
56. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK & Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 88: 2510-6.
57. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tangphao O, Tsao PS, Chan JR, Blaschke TF & Cooke JP. ADMA: a novel risk factor for endothelial dysfunction. Its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842-7.
58. Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Tsikas D, Hornig B, Frölich JC & Böger RH. (2003) ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia. Effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res* 57: 244-52.
59. Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Stühlinger M & Tsao PS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001; 88: 1201-3.
60. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K & Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1997; 95: 2068-74.
61. Goonasekera CD, Rees DD, Woolard P, Frend A, Shah V & Dillon MJ. Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens* 1997; 15: 901-9.
62. Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Böger RH, Bode-Böger SM, Kruszelnicka-Kwiatkowska O, Kokot F, Dubiel J & Frölich JC. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 652-8.
63. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J & Laaksonen R. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001; 358: 2127-8.

Yazışma adresi:

Dr. Özben Özden Işıklar
Nenehatun Kadın Doğum Hastanesi,
Tıbbi Biyokimya, Erzurum
E-posta: ozben_265@hotmail.com
