

Asimetrik dimetilarjininin metabolizması ve klinik önemi

[Metabolism of asymmetric dimethylarginine and its clinical significance]

M. Kemal Erbil,
Yasemin Gülcan Kurt,
Halil Yaman,
Erdoğan Çakır,
E.Özgür Akgül,
Tuncer Çaycı

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, T. Biyokimya AD.
Etlik 06018, Ankara

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

M. Kemal Erbil

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Biyokimya
AD. Bşk. İği 06018, Ankara, TÜRKİYE
Tel. 0 312 3043303
Faks. 0 312 3043300
E-posta. mkerbil@gata.edu.tr

Kayıt Tarihi: 5 Temmuz 2011; Kabul Tarihi: 26 Ekim 2011
[Registered: 5 July 2011; Accepted: 16 October 2011]

ÖZET

Asimetrik dimetilarjinin nitrik oksit sentaz enziminin endojen inhibitörüdür. Nitrik oksit endotel bağımlı vazodilatasyon, damar duvarındaki düz kas proliferasyonu, hücre-hücre etkileşimleri, platelet adezyon ve agregasyonunun inhibisyonu ile monosit adezyonu inhibisyonu gibi düzenleyici fonksiyonlara sahiptir. Arjinin amino asitinin modifiye bir formu olan asimetrik dimetilarjinin, metillenmiş proteinlerin proteolizi sonucu oluşur. Hücrede oluşan ve salınan net asimetrik dimetilarjinin miktarı, arjinin metilasyonu, metillenmiş arjinin içeren proteinlerin yıkımı, dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz enzimi ile metabolizasyonu ve hücreden atılımı oranları arasındaki dengeye bağlıdır. Hücre içinde oluşan asimetrik dimetilarjininin neredeyse tamamı dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz enzimi tarafından yıkılırken küçük miktardaki asimetrik dimetilarjinin, katyonik amino asit taşıyıcıları tarafından hücreden kan dolaşımına taşınır. Plazmaya geçen asimetrik dimetilarjinin ya böbreklerden değişime uğramadan idrar ile atılmakta ya da başlıca karaciğer ve böbrekte olmak üzere tekrar hücre içine alınarak dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz enzimi tarafından metabolize edilmektedir. Plazma asimetrik dimetilarjinin seviyesi, çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunması ile birlikte, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, kütle spektrometresi ve ELISA ile ölçülebilir. Plazmadaki asimetrik dimetilarjininin biyolojik olarak aktif olup olmadığı kesin olarak bilinmemektedir. Ancak literatürde pek çok klinik durumda plazma asimetrik dimetilarjinin konsantrasyonunun yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bölümümüzde yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda da literatürle uyumlu olarak kronik böbrek hastalığı, hipertansiyon, endometriosis ve şizofreni hastalarında yüksek olarak bulunmuştur. Özellikle, nitrik oksit gibi, kardiyovasküler sistem üzerine birçok düzenleyici etkisi bulunan bir molekülün sentezini inhibe etmesi nedeni ile günümüzde yeni bir kardiyovasküler risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Endotel disfonksiyonuna yol açması ve endotel disfonksiyonun birçok hastalığın patogeneğinde önemli olması, yakın gelecekte de asimetrik dimetilarjinin üzerine araştırmaların devam edeceğine işaret etmektedir.

Anahtar Sözcükler: Asimetrik dimetilarjininin, nitrik oksit, dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz, endotel disfonksiyonu

Çıkar çatışması: Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

ABSTRACT

Asymmetric dimethylarginine is an endogenous inhibitory of nitric oxide synthase enzyme. Nitric oxide has regulatory functions such as endothelial dependent vasodilatation, smooth muscle proliferation in vessel wall, cell-cell interactions, platelet aggregation and adhesion inhibition and monosit adhesion inhibition. Asymmetric dimethylarginine, a modified form of arginine amino acid, is produced by proteolysis of methylated proteins. Net amount of produced and released ADMA depends on the balance between arginine methylation, degradation of proteins containing methylated arginine and metabolism by the enzyme dimetilarjinin dimethylaminohidrolase and the excretion rates. Almost all of the asymmetric dimetilarjininin produced in cell is digested by the dimetilarjinin dimethylaminohidrolase enzyme, a small amounts of the asymmetric dimetilarjinin is moved from the cells into the bloodstream by cationic amino acid transporters. Asymmetric dimetilarjinin in plasma either excreted by urine without change, or take back into the cell primarily at kidneys and liver and is metabolized by the enzyme dimetilarjinin dimethylaminohidrolase. Plasma levels of asymmetric dimetilarjinin can be measured by high-performance liquid chromatography, mass spectrometry and ELISA with various advantages and disadvantages. It is not known that asymmetric dimetilarjinin in plasma biologically active or not, but in literature, there are many studies reporting high plasma asymmetric dimethylarginine levels in various clinical situations. Clinical and experimental studies, performed in our department, also showed that elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in chronic kidney disease, hypertension, endometriosis, and schizophrenia in accordance with the literature. Nowadays it is considered as a new cardiovascular risk factor due to its inhibition the synthesis of nitric oxide which has many regulatory effects on cardiovascular system. Leading to endothelial dysfunction and the importance of endothelial dysfunction in pathogenesis of many diseases, indicates that the research about asymmetric dimethylarginine will continue in the near future too.

Key Words: Asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, dimethylarginine dimethylaminohidrolase, endothelial dysfunction

Conflict of interest: The authors do not have a conflict of interest.

Giriş

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), arjinin amino asitinin translasyon sonrası modifiye olmuş bir formudur [1]. ADMA'yı önemli kılan, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini yarışmalı olarak inhibe etmesidir. Nitrik oksit (NO) sadece endotel bağımlı vazodilatasyon değil aynı zamanda damar duvarındaki düz kas proliferasyonu, lümendeki hücre-hücre etkileşimleri, platelet adezyon ve agregasyon inhibisyonu ve monosit adezyon inhibisyonu gibi düzenleyici fonksiyonları da olan; vasküler dengenin sağlanmasında ve organ kan akımının idamesinde rol alan kilit bir moleküldür [2,3]. Anjiogenez stimülasyonu, süperoksit radikallerinin salınışının engellenmesi gibi vasküler sistem üzerindeki fonksiyonlarından dolayı NO'e "endojen anti-aterojenik molekül" adı verilmiştir [4, 5]. ADMA, böylesine önemli fonksiyonlara sahip anti-aterojenik bir molekülün sentezini selektif olarak inhibe eder ve NO'in koruyucu etkilerinden vasküler sistemin faydalanmasını engelleyerek patofizyolojik etkilerini gösterir [6, 7]. ADMA 1970'li yıllardan beri bilinen bir metabolit olmasına rağmen, 1992 yılında NOS enzimini inhibe edici etkisinin ortaya konmasıyla birlikte dikkatleri üzerine çekmiş ve o günden bu yana hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır [8, 9]. Bu derlemede, başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere birçok hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülen ADMA'nın oluşum-yıkım süreci, vücuttan atılımı ve klinikopatolojik özellikleri tartışılmıştır.

Serbest ADMA Oluşumu

Serbest ADMA oluşumu için iki kompleks olayın gerçekleşmesi gerekir. Birincisi proteinlerdeki arjinin kalıntılarının metillenmesi, ikincisi ise bu metillenmiş proteinlerin proteoliz yoluyla serbest aminoasitlere kadar yıkılmasıdır. Serbest ADMA, bu yıkım ile ortaya çıkmaktadır.

Proteinlerdeki arjinin kalıntılarında metil gruplarının eklenmesini, protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimleri sağlar [10]. PRMT enziminin iki ana tipi vardır. Her ikisi de arjininin monometillenmesini sağlayabilir. Böylece N^G-monometil-L-arjinin (NMMA) oluşur. Fakat ikinci bir metil grubu eklendiğinde oluşacak ürün, PRMT enziminin tipine bağlıdır. Tip-1 PRMT enzimi, aynı guanidino azotunu dimetilleyerek N^G,N^G-dimetil-L-arjinin (asimetrik dimetilarjinin = ADMA) oluşumunu katalizlerken, tip-2, her iki guanidino azotunu monometilleyerek N^G,N^G-dimetil-L-arjinin (simetrik dimetilarjinin = SDMA) oluşumunu gerçekleştirir [11, 12]. Şekil 1'de arjinin ve endojen metilarjininlerin moleküler formülleri görülmektedir.

PRMT enzimleri metil vericisi olarak S-adenozilmetiononin (SAM) kullanırlar. SAM ise ATP ve metiyoninden sentezlenir. SAM, metil grubunu transfer ettikten sonra S-adenozilhomosisteine (SAH) dönüşür. SAH, enzimatik olarak homosisteine çevrilir. Oluşan homosistein ya trans-sülfürasyon yolu ile metabolize edilir yada tekrar metillenerek metiyonine dönüşür

(Şekil 2). Tekrar metilasyon reaksiyonu, metil vericisi olarak vitamin B ve 5-metil tetrahidrofolik aside bağımlıdır. ADMA sentezi için iki adet metil grubu transferine ihtiyaç vardır ve bu reaksiyondan yan ürün olarak iki homosistein oluşur. Plazma homosistein ve ADMA seviyeleri arasında pozitif korelasyon varlığı bildirilmiştir [13].

Proteine bağlı arjininin metillenmesi ile oluşan proteine bağlı ADMA'nın NOS enzimi üzerinde inhibitör etkisi yoktur. Bu inhibisyon için metillenmiş proteinlerin proteolizi ile oluşan serbest ADMA şarttır. Bugüne kadar serbest arjinden ADMA sentezlendiğine dair literatürde bir bulgu yoktur.

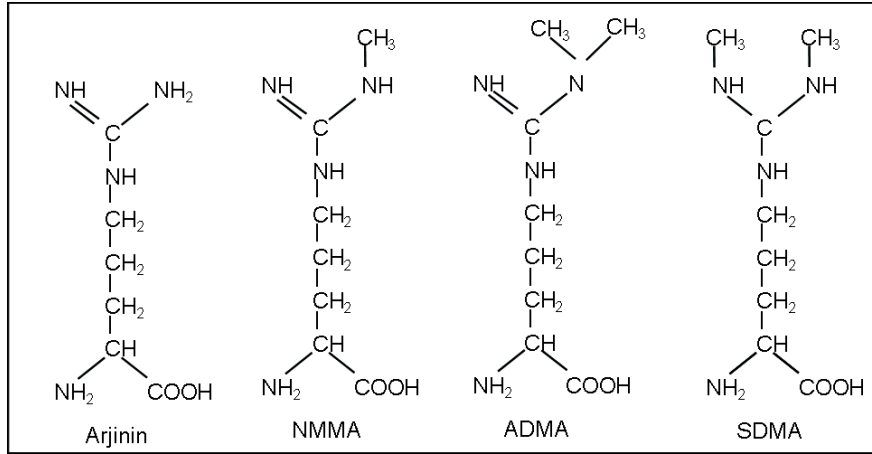
ADMA'nın Yıkılması

Proteoliz sonucu hücrede ortaya çıkan serbest ADMA'nın büyük bir kısmı, olduğu hücrede dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından hemen yıkılmaktadır. Küçük bir kısmı ise hücre içi yıkımdan kaçarak kan dolaşımına girmektedir. Kan dolaşımına geçen bu küçük miktardaki ADMA, ya böbreklerden değişime uğramadan idrar ile atılmakta yada başlıca karaciğer ve böbrekte olmak üzere tekrar hücre içine alınarak DDAH enzimi tarafından metabolize edilmektedir (Şekil 2) [14].

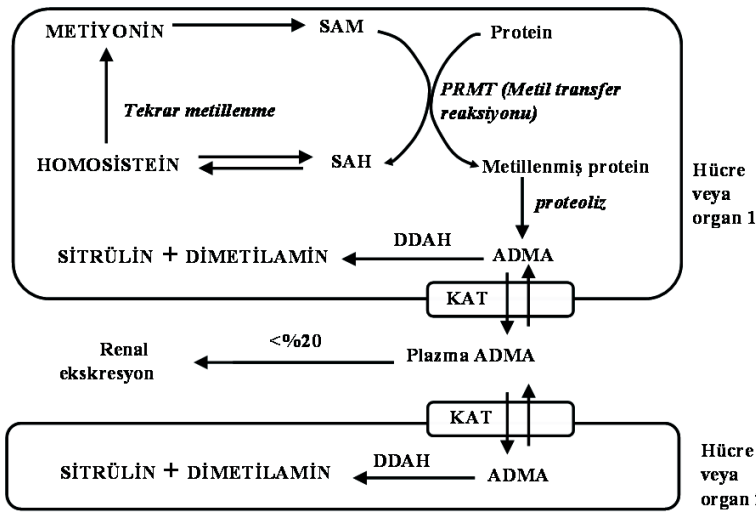
ADMA'nın büyük bir kısmı (yaklaşık %80-85'i) hücre içinde DDAH tarafından sitrülün ve dimetilamine yıkılır (Şekil 2). DDAH enzimi ile yıkım, katabolik yol olarak renal ekskresyondan çok daha önemlidir. Çünkü 24 saatlik renal ADMA ekskresyonu (50 µmol/L), 24 saatlik ADMA oluşum miktarının (300 µmol/L) sadece altıda biridir [11]. Dolayısıyla ADMA konsantrasyonunun başlıca düzenleyicisi DDAH enzimidir. Bugüne kadar DDAH enzimi varlığı ve aktivitesi karaciğer, böbrek, kalp ve iskelet kası, pankreas, plasenta, akciğer ve beyin dokularında, eritrosit, monosit ve polimorfonükleer lökositlerde gösterilmiştir [8,15,16].

DDAH enzimi sitozolik bir enzimdir. Açık bir kofaktör gereksinimi tespit edilmemiştir ama aktivitesi kadmiyum ve bakır gibi bazı iki değerli katyonlar tarafından inhibe edilmektedir [8]. Enzimin aktif bölgesinde bulunan sistein aminoasitinin serin amino asiti ile değiştirilmesi enzimi inaktifleştirmektedir [17]. Bu sistein oksidasyona ve NO ile regülasyona duyarlıdır [18].

İnsanlar da dahil olmak üzere yüksek organizmalarda DDAH enziminin, kromozom 1 (DDAH-1) ve 6'da (DDAH-2) lokalize genler tarafından kodlanan iki izoformu tanımlanmıştır [14]. DDAH-1 izoformunun yüksek miktarlarda nNOS ekspresyonu yapan dokularla, DDAH-2 izoformunun ise eNOS ekspresyonu yapan dokularla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kardiyovasküler sistemde her iki izoform tespit edilmekle beraber, DDAH-2 ekspresyonunun daha fazla olduğu görülmektedir. İnsan endotel hücrelerinde, hem DDAH-1 hem de DDAH-2 izoformları mevcuttur [15]. Bu iki izoformun doku dağılımları farklı olmasına rağmen aktiviteleeri benzerdir [19]. Saflaştırılmış rekombinant hDDAH-1'



Şekil 1. L-Arjinin, NMMA (N^G-monometil-L-arjinin), ADMA (asimetrik dimetilarjinin) ve SDMA (Simetrik dimetilarjinin) 'in moleküler formülleri.



Şekil 2. ADMA oluşumu ve metabolizmasının şematik gösterimi. (SAM: S-adenozil metiyonin, SAH: S-adenozil homosistein, KAT: katyonik aminoasit taşıyıcıları)

in ADMA için K_m değeri $68.7 \mu\text{M}$, V_{max} ise 356 nmol/mg/dk bulunmuştur [20]. Saflaştırılmış rekombinant hDDAH-2 kullanılarak yapılan enzim kinetiği çalışmalarında ise ADMA için K_m değeri, $16 \mu\text{M}$, V_{max} ise 4.8 nmol/mg/dk olarak tespit edilmiştir [21].

ADMA'nın Dolaşıma Geçişi ve Dolaşımdaki ADMA ADMA'nın büyük bir kısmı hücre içinde DDAH tarafından yıkılmaktadır. Yıkımdan kurtulan küçük miktardaki ADMA, katyonik amino asit taşıyıcıları (KAT) tarafından hücreden plazmaya taşınır (Şekil 2). KAT, ADMA'nın hem hücreden dışarıya salınmasında, hem de hücreye alınmasında görevlidir. Konjestif kalp yetmezliği, akut böbrek yetmezliği ve septik şok gibi bazı klinik durumlarda KAT ekspresyonunun değişmiş olduğu bildirilmiştir [22-24].

KAT tarafından dolaşıma taşınan ADMA'nın, biyolojik olarak aktif olup olmadığı veya yüksek plazma konsantrasyonunun yüksek hücre içi seviyelerin bir belirtisi olup olmadığı bilinmemektedir. Ancak sağlıklı kişilerde ($0.5-1.2 \mu\text{mol/L}$) veya hastalardaki (ortalama $3 \mu\text{mol/L}$) ADMA seviyelerinin biyolojik olarak aktif ola-

mayacak kadar düşük olduğu düşünülmektedir [25]. Hücre içi ADMA düzeyi, dolaşımdaki ADMA düzeyinden 5-10 kat daha fazladır. Fizyolojik şartlar altında hücre içi düzeyi yaklaşık $3.6 \mu\text{mol/L}$ olan ADMA'nın endotelial NO üzerine etkisi sadece %10 iken, plazma ADMA düzeyinin 3 ile 9 kat arttığı patolojik şartlar altında NO üretimi üzerine inhibitör etkisi %30-70'lere çıkabilmektedir [26].

ADMA'nın sağlıklı gönüllülere infüzyonu ile plazma ADMA konsantrasyonu patofizyolojik sınırlarda iken kan basıncı ve vasküler dirençte artma, kardiyak çıktı ve kalp hızında ise azalma görülmüştür. Kalp hızındaki düşme, vasküler direnç değişimlerine göre daha hızlı ve erken gerçekleşmiştir [27, 28].

Organlarda DDAH Enzimi Aracılığıyla ADMA Metabolizması

Dolaşımdaki ADMA idrar ile atılan miktarı haricinde çeşitli organlarda tekrar hücre içine alınır ve DDAH enzimi ile yıkılır. Bu organlar başlıca karaciğer ve böbrektir. Böbrek yetmezliğinde ADMA'nın biriktiği ve yük-

sek ADMA seviyesinin son dönem böbrek hastalığındaki kardiyovasküler mortalite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [9,29]. Prospektif bir çalışmada karaciğer nakli yapılan hastaların operasyon öncesi ADMA konsantrasyonunun yüksek olduğu ve nakil sonrası ADMA konsantrasyonunun hızla düştüğü, akut organ reddi vakalarında ise ADMA konsantrasyonunun, ret görülmeyenlere göre operasyon sonrası bir ay boyunca yüksek kaldığı gösterilmiştir [30]. Ayrıca karaciğer yetmezliğine bağlı olarak ADMA konsantrasyonunun yüksek olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur [31]. Bu hastalarda plazma ADMA konsantrasyonu mortalite için güçlü ve bağımsız bir risk faktörü olarak öne çıkmıştır. Bu bulgulara dayanarak ADMA birikiminin, fizyolojik fonksiyonları çok önemli olan NO üretimini azaltarak, çoklu organ yetmezliği gelişiminde sebepsel bir faktör olabileceği bildirilmiştir [32].

Hücrel ADMA Miktarının Düzenlenmesi

Hücrede oluşan ve salınan net ADMA miktarı, arjinin metilasyonu, metillenmiş arjinin içeren proteinlerin yıkımı, ADMA'nın DDAH enzimleri ile metabolizasyonu ve hücreden atılımı oranları arasındaki dengeye bağlıdır. Her bir komponentin, ADMA miktarına ne kadar katkı sağladığı henüz bilinmemektedir. Ancak yüksek metabolik kapasitesi ile DDAH enzimi, hücredeki ADMA seviyesini belirleyen en önemli değişken gibi görünmektedir. ADMA oluşumu oldukça karmaşıktır ve protein yıkım derecesinin ADMA oluşumu ile nasıl bir bağlantı içinde olduğu net olarak bilinmemektedir. Patolojik olaylara neden olmamak için DDAH enzimi tarafından hemen elimine edilmesi gereken ADMA protein yıkımının bir yan ürünü olmaktan ziyade proteinlerin yıkımı ile NO yolağı arasında önemli biyolojik bağlantıların kilit bir elamanıdır.

Hücre içi ADMA göreceli olarak stabildir. ADMA bir hücrede yapıldığında başka bir hücredeki NOS enzimini inhibe etme yeteneğine de sahiptir [33].

Çeşitli Klinik Durumlarda ADMA ve Önemi

Prospektif klinik çalışmalar, plazma ADMA konsantrasyonunun kardiyovasküler riskin arttığı pek çok durumda ve bilinen kardiyovasküler hastalığı olanlarda arttığını desteklemektedir. Stabil koroner arter hastalığı olan ve ortalama 16 ay takip edilen 153 hastada, elektif koroner anjiyoplasti sonrası plazma ADMA konsantrasyonlarındaki artışla birlikte restenoz riskinin de arttığı gösterilmiştir [34]. 2.6 yıl takip edilen 1874 stabil koroner arter hastasını kapsayan prospektif kohort çalışmasında (AtheroGene Çalışması) yüksek ADMA seviyelerinin, ileride geçirilebilecek kalp krizinin bağımsız bir belirtici olduğu ve kardiyovasküler nedenlerle gerçekleşen ölüm ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [35]. Anjiyografi ile koroner arter hastası (n = 2543) ve sağlam (n = 695) olduğu belirlenen kişilerin dahil edildiği çalışmada, yaş, cinsiyet ve kardiyovasküler risk faktörlerine göre düzeltilmiş tüm mortalite nedenleri için 2., 3. ve 4. çeyrek ADMA düzeylerinin 1. çeyrek ile kıyaslandığında kardiyovasküler ölüm

için tehlike oranları sırasıyla 1.13 (95%CI: 0.78–1.63), 1.42 (95%CI: 1.00–2.02) ve 1.81 (95%CI: 1.31–2.51) olarak bulunmuştur [36]. Mevcut literatür bilgilerine göre ADMA kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörü adayı olmasına karşın henüz ADMA ve kardiyovasküler risk ilişkisi hakkında yapılan randomize kontrollü çalışmaların meta analizi bulunmamaktadır.

Yüksek ADMA ile ilgili kardiyovasküler riskin NOS yetmezliğinin doğrudan bir sonucu olup olmadığı ve ADMA'nın NOS bağımlı NO üretimi düzenlenmesine katkısı hususu da ayrıca bir tartışma alanıdır. DDAH-1 fazla ekspresyonu yapan transgenik farelerin kalp nakli sonrası intima kalınlaşması, lümen daralması gibi morfolojik bulgularla kendini gösteren kalp nakli vaskülopatisine karşı korunduğu gösterilmiştir. [37]. İn-vivo DDAH-1 geninin küçük inhibitör RNA (siRNA) tekniği ile susturulması sonucu plazma ADMA seviyelerinin %50 oranında arttığı ancak bu artışın endotel bağımlı vazodilatasyon üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı; DDAH-2 geninin susturulması ise plazma ADMA üzerinde herhangi bir etki oluşturmazken endotel bağımlı vazodilatasyonun %40 azaldığı bildirilmiştir [38]. Bu bulgular, plazma ADMA konsantrasyonunun yüksek olması endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına neden olmazken, DDAH-2 aktivitesi kaybının plazma ADMA seviyesini arttırmaksızın endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına sebep olduğunu göstermektedir. Homozigot DDAH-1 yokluğu olan fareler hayatta bağdaşmazken her üç NOS geni de çıkartılmış (knock out) fareler yaşayabilmektedir [39]. ApoE^{-/-} farelerde DDAH-1 aktivitesi ve endotel bağımlı vazodilatasyonun azaldığı, protein metilasyonunun arttığı gözlenmiştir [21]. ApoE^{-/-} fareler DDAH-1 fazla ekspresyonu yapacak şekilde transgenik hale getirildiğinde DDAH-1 aktivitesinin korunduğu, endotel bağımlı vazodilatasyonun arttığı ve protein metilasyonunun azaldığı gösterilmiştir [21]. Kardiyovasküler hastalık patojenezine sadece ADMA değil muhtemelen protein metilasyonu, DDAH, ADMA ve NO yollarının karşılıklı etkileşimleri katkıda bulunmaktadır.

Jacobi ve Tsao tarafından yapılan derlemede kronik böbrek hastalığında plazma ADMA konsantrasyonları 0.46–4.20 µmol/L olarak bildirilmiştir [40]. Derlemede yer alan çalışmaların kontrol grubu ADMA değerleri ise 0.36–1.40 µmol/L arasındadır ve çalışmalardaki metodolojik farklılıklar böyle geniş bir aralığa neden olmuştur. Kronik böbrek hastalığında pek çok randomize kontrollü çalışma olmasına rağmen meta-analiz bulunmamasının en önemli nedenlerinden birisi de çalışmalardaki metod farklılığı ve standardizasyonun bulunmamasıdır. Kronik böbrek hastalarında hem oksidatif stres hem de ADMA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur [41]. Kronik böbrek hastalarında önemli ölçüde kardiyovasküler risk faktörleri bulunur ve hemodiyaliz tedavisi başladığında mortalite oranları beklenenden de yüksek olur. Endotel disfonksiyonu varlığı ileride gelişebilecek kardiyovasküler durumların

önemli bir belirleyicisidir. Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda plazma ADMA düzeylerinin, endotel disfonksiyonunun tanı yöntemlerinden biri olan karotid arter intima-media kalınlığı ile bağımsız olarak ilişkili ve progresyonu tahmin ettirici olduğu gösterilmiştir [42]. Orta-ileri kronik böbrek yetmezliği hastalarında glomerüler filtrasyon hızı ile plazma ADMA'nın ters ilişkili olduğu, aynı zamanda son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme ve ölüm için ADMA'nın güçlü ve bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir [43]. Hemodiyaliz hastalarında yaştan sonraki en güçlü ölüm tahmincisi ADMA'dır ve 75 persentilden yüksek ADMA konsantrasyonları ölüm riskinde 2-3 kat artışa neden olmaktadır [29]. Renal transplantasyon sonrası endotel fonksiyonu iyileşirken plazma ADMA azalması da buna eşlik etmektedir. Renal transplant sonrası 1.,3., 7.,14. ve 28. günlerde plazma ADMA seviyelerinin hemen ilk günden itibaren her gün anlamlı olarak transplant öncesine göre azaldığı görülmüştür [44].

Yoğun bakımda yatan kritik hastalarda yapılmış prospektif bir çalışmada mortalite riskini belirlemede ADMA'nın en güçlü belirteç olarak öne çıktığı ve en yüksek ADMA konsantrasyonlarına sahip gruptaki hastalarda mortalite riskinin, daha düşük ADMA konsantrasyonlarına sahip hastalara göre 17 kat artmış olduğu bildirilmiştir [31].

Prospektif bir çalışmada karaciğer nakli yapılan hastaların operasyon öncesi ADMA konsantrasyonunun yüksek olduğu ve nakil sonrası ADMA konsantrasyonunun hızla düştüğü, akut organ reddi vakalarında ise ADMA konsantrasyonunun ret görülmeyenlere göre operasyon sonrası bir ay boyunca yüksek kaldığı gösterilmiştir [30]. Kritik olarak hasta olup da iki veya daha fazla organ disfonksiyonu olan hastalarda önemli derecede karaciğer yetmezliğine bağlı olarak ADMA konsantrasyonunun yüksek olduğu gösterilmiştir [45]. Bu hastalarda plazma ADMA konsantrasyonu mortalite için güçlü ve bağımsız bir risk faktörü olarak öne çıkmıştır. Bu bulgulara dayanarak ADMA birikimi, fizyolojik fonksiyonları çok önemli olan NO üretimini azaltarak, çoklu organ yetmezliği gelişiminde sebepsel bir faktör olabilir [32].

ADMA düzeyleri hipertansiyon, kontrolsüz hiperglisemi ve diabetik mikroangiopatisi olan hastalarda yüksek bulunmaktadır. Hipertansiyon ve tip 2 diabetes mellitusda vasküler disfonksiyon ve insülin direnci varlığının en erken belirteçlerinden birisi plazma ADMA düzeylerindeki yüksekliktir [46]. Renin-angiotensin-aldosteron sistemi blokörleri tip 2 diabetes mellitus hastalarında ve esansiyel hipertansiyon hastalarında plazma ADMA seviyelerini düşürür [47, 48]. Kronik böbrek hastalarında ACE inhibitörü ramipril ile anjiotensin reseptör antagonisti valsartan kıyaslanmış ve her iki ilacın da endotel disfonksiyonu iyileştirmede ve yükselmiş ADMA seviyelerini azaltmada eşit oranda etkin oldukları bulunmuştur [49].

Primer glomerulonefrit veya sekonder amiloidozun neden olduğu, farklı seviyelerde proteinürisi bulunan kronik böbrek hastalarında kardiyovasküler risk faktörleri, serum ADMA düzeyleri ve brakial arter akımla uya-

rılan vazodilatasyon (FMD: flow mediated dilatation) yöntemi ile endotel fonksiyonu değerlendirilmiştir. Sekonder amiloidozlu hastaların, benzer düzeyde proteinürisi olan hastalara göre, daha yüksek ADMA ve SDMA düzeylerine ve daha düşük FMD ölçümüne sahip oldukları gözlenmiştir [50].

DeneySEL endometriosis oluşturulmuş ratlarda, kontrol grubuna göre daha yüksek plazma ADMA konsantrasyonları bulunmuştur [51].

İdiyopatik hipogonadotropik hipogonad hastalarının plazma ADMA ve arjinin konsantrasyonları kontrol grubuna göre daha yüksek bulunurken tek doz intramusküler testosteron tedavisi sonrasında ise her ikisi de istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir [52].

Şizofreni hastalarında ortalama plazma ADMA konsantrasyonu sağlıklı kontrole göre üç kat daha yüksek olmakla birlikte, çok ataklı şizofreni hastaları ilk atak hastalarına göre daha yüksek ADMA düzeylerine sahiptir [53]. Bu yükseklik kronik şizofreni hastalarının daha çok psikotropik ilaç almalarından kaynaklanabilir. Literatürde yukarıda belirtilen klinik durumlara ek olarak, ateroskleroz [54], hiperkolesterolemi [55], behçet hastalığı [56], hipertiroidi [57], multipl skleroz [58] ve orak hücreli anemi [59] hastalarında ADMA artışını bildiren çalışmalar mevcuttur.

ADMA Ölçüm Metotları

ADMA ölçümünde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) en yaygın olarak kullanılan yöntemdir ve genellikle de floresan dedektör kullanılır. ADMA'nın kendisi floresan özellikte olmadığı için genellikle ortofaldehyd derivatizan ajan olarak kullanılır. HPLC ile ölçümün en büyük avantajı bir örnekte aynı anda ADMA, SDMA ve arjininin kantitasyonuna olanak sağlamasıdır. HPLC yönteminin dezavantajı ise analiz süresinin nispeten uzun olması ve zahmetli bir örnek hazırlama aşamasının gerekliliğidir. Özgüllüğü, zahmetli örnek hazırlama teknikleri gerektirmemesi ve kısa analiz süresi gibi avantajlarıyla kütle spektrometresi (MS) yöntemleri kullanımı da giderek artmaktadır. HPLC ve özellikle MS'in her laboratuarda bulunmaması ve uzmanlık gerektirmesi nedeniyle ELISA yöntemi de geliştirilmiş ve onaylanmıştır [60]. ELISA'nın en büyük avantajı zahmetsiz olması ve ölçüm için gerekli donanımın hemen her laboratuarda bulunmasıdır. Ancak, ELISA yöntemi ile elde edilen sonuçlar kromatografik yöntemlerden anlamlı derecede daha yüksektir [61,62]. Bir başka önemli dezavantajı %10 gibi nispeten yüksek tutarsızlık oranına sahip olmasıdır [60]. Ayrıca ELISA yöntemi ile HPLC ve MS'den farklı olarak örnekte aynı anda ADMA'ya ek olarak arjinin ve SDMA ölçmek mümkün değildir.

Sonuç

Günümüzde birçok hastalığın patogenezinde açıklanamayan kısımlar bulunmaktadır. Hastalıkların patogenezinin anlamak ve bunları tedavi ile ilişkilendirmek, yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi ve hatta hastalıklar

oluşmadan sağlıklı kişilerin risk faktörlerinin elimine edilmesi açısından son derece önemlidir. NO gibi, kardiyovasküler sistem üzerine birçok düzenleyici etkisi bulunan bir moleküllü inhibe etmesi nedeni ile ADMA, son zamanlarda üzerinde sık araştırma yapılan moleküllerden biri olmuştur. Başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere birçok hastalıkta arttığı ve bazı hastalıkların patogeneğinde önemli olduğu gösterilmiştir. Endotel disfonksiyonuna yol açması ve birçok hastalığın patogeneğinde endotel disfonksiyonun önemli olması, yakın gelecekte de ADMA üzerine araştırmaların devam etmekte olduğunu göstermektedir.

Çıkar çatışması: Yazarların çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- [1] Böger RH, Vallance P, Cooke JP. (2003) Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a key regulator of nitric oxide synthase. *Atherosclerosis Supplements* 4: 1–3.
- [2] Cooke J, Dzau V. (1997) Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular disease. *Circulation* 96: 379–382.
- [3] Napoli C, Ignarro LJ. (2001) Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide* 5: 88–97
- [4] Cooke JP ve Losordo DW. (2002) Nitric Oxide and angiogenesis. *Circulation* 105 (18):2133–5
- [5] Cooke JP, Tsao PS. (1994) Is NO an endogenous anti atherogenic molecule? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 14: 653–5
- [6] Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. (1992) Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20 (Suppl. 12):S60–62
- [7] Rees DD, Palmer RM, Schulz R, Hodson HF, Moncada S. (1990) Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br. J.Pharmacol.*101:746–52
- [8] Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. (1989) Purification and properties of a new enzyme: NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase from rat kidney. *J Biol Chem.*264:10205–10209
- [9] Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. (1992) Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339:572–75.
- [10] Clarke S. (1993) Protein methylation. *Curr Opin Cell Biol.* 5: 977–983
- [11] Vallance P, Leiper J. (2004) Cardiovascular Biology of the Asymmetric Dimethylarginine: Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Pathway. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:1023–30
- [12] Tran CTL, Leiper J M., Vallance P. (2003) The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atherosclerosis Supplements* 4:33–40
- [13] Holven KB, Haugstad TS, Holm T, Aukrust P et al. (2003) Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects. *Br J Nutr.* 89: 359–63
- [14] Teerlink T. (2005) ADMA metabolism and clearance. *Vascular Medicine.*10:S73–81
- [15] Leiper J, MacAllister R, Whitley G, Santa Maria J, Chubb A et al.. (1999) Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology to microbial arginine deiminases. *Biochem J.* 343:209–214
- [16] Kang ES., Cates TB., Harper DN., Chiang TM, Myers LK et al. (2001) An Enzyme Hydrolyzing Methylated Inhibitors of Nitric Oxide Synthase is Present in Circulating Human Red Blood Cells. *Free Radical Research*, 35: 693–707
- [17] Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, Tilley S, Santa Maria J et al. (2001) Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Nat Struct Biol.* 8:679–683
- [18] Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P. (2002) S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 13527–13532
- [19] Knipp M, Charnock JM, Garner CD, Vasak M. (2001) Structural and functional characterization of the Zn (II) site in dimethylargininase-1 (DDAH-1) from bovine brain. Zn (II) release activates DDAH-1. *J Biol Chem.* 276:40449–40456
- [20] Forbes SP, Druhan LJ, Guzman JE, Parinandi N, Zhang L et al. (2008) Mechanism of 4-HNE mediated inhibition of hDDAH-1: implications in no regulation. *Biochemistry* 47 (6):1819–26.
- [21] Pope AJ, Karupiah K, Cardounel AJ. (2009) Role of the PRMT-DDAH-ADMA axis in the regulation of endothelial nitric oxide production. *Pharmacol Res.* 60 (6):461–5.
- [22] Reade MC, Clark MF, Young JD, Boyd CA. (2002) Increased cationic amino acid flux through a newly expressed transporter in cells overproducing nitric oxide from patients with septic shock. *Clin Sci.*102:645–50
- [23] Mendes Ribeiro AC, Brunini TM, Ellory JC, Mann GE. (2001) Abnormalities in L-arginine transport and nitric oxide biosynthesis in chronic renal and heart failure. *Cardiovasc Res.* 49:697–712
- [24] Kaye DM, Ahlers BA, Autelitano DJ, Chin-Dusting JP. (2000) In vivo and in vitro evidence for impaired arginine transport in human heart failure. *Circulation* 102:2707–12
- [25] Wu G, Morris SM Jr. (1998) Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 336:1–17
- [26] Wilcken D.E.L., Sim A.S., Wang J., Wang X.L. (2007) Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of L-arginine on its metabolism. *Molecular Genetics and Metabolism* 91:309–317
- [27] Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J et al. (2003) Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:1455–59
- [28] Kielstein JT, Impraïm B, Simmel S, Bode-Boger SM, Tsikas D, et al. (2004) Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation*;109:172–177
- [29] Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F, Benedetto FA, Tripepi G et al. (2001) Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 358:2113–17
- [30] Siroen MP, Warlé MC, Teerlink T, Nijveldt RJ, Kuipers EJ et al. (2004) The transplanted liver graft is capable of clearing asymmetric dimethylarginine. *Liver Transpl*;10:1524–30
- [31] Nijveldt RJ, Teerlink T, van der Hoven B, Siroen MPC, Kuik DJ et al. (2003) Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr*;22:23–30
- [32] Nijveldt RJ, Teerlink T, van Leeuwen PA. (2003) The asymmetrical dimethylarginine (ADMA) -multiple organ failure hypothesis. *Clin Nutr*;22:99–104
- [33] Fickling SA, Holden DP, Cartwright JE, Nussey SS, Vallance P et al. (1999) Regulation of macrophage nitric oxide

synthesis by endothelial cells: a role NG, NG dimethylarginine. *Acta Physiol Scand.*;167:145–150

- [34] Lu T.M., Ding Y.A., Lin S.J., Lee W.S. and Tai H.C., (2003) Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*, 24, pp. 1912–1919
- [35] Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, Lackner KJ, Rupprecht HJ et al. (2005) Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ Res.*, 97, e53–e59
- [36] Meinitzer A, Seelhorst U., Wellnitz B., Halwachs-Baumann G., Boehm B.O. et al. (2007) Asymmetrical dimethylarginine independently predicts total and cardiovascular mortality in individuals with angiographic coronary artery disease (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *Clin Chem Feb*;53 (2):273–83.
- [37] Tanaka M, Sydow K, Gunawan F, Jacobi J, Tsao PSet al. (2005) Dimethylarginine dimethylaminohydrolase overexpression suppresses graft coronary artery disease. *Circulation*;112 (11):1549–1556.
- [38] Wang D, Gill PS, Chabrashvili T, Onozato ML, Raggio J et al. (2007) Isoform-specific regulation by N (G), N (G) -dimethylarginine dimethylaminohydrolase of rat serum asymmetric dimethylarginine and vascular endothelium-derived relaxing factor/NO. *Circ Res*;101 (6):627–635
- [39] Leiper J, Nandi M, Torondel B, Murray-Rust J, Malaki M et al. (2007) Disruption of methylarginine metabolism impairs vascular homeostasis. *Nat Med*;13 (2):198–203
- [40] Jacobi J, Tsao P. (2008) Asymmetrical dimethylarginine in renal disease: limits of variation or variation limits? A systematic review. *Am J Nephrol*;28:224–37
- [41] Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Sonmez A et al. (2005) The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. *Am J Kidney Dis*;47:42–50
- [42] Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F, Tripepi G. et al. (2002) Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.*;13:490–96
- [43] Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S. Mallamaci F et al. (2005) Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *J. Am. Soc. Nephrol.*;16:2449–55
- [44] Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Ozgurtas T et al. (2005) Endothelial functions improve with decrease in asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels after renal transplantation. *Transplantation*. Dec 27;80 (12):1660–6.
- [45] Nijveldt RJ, Teerlink T, van der Hoven B, Siroen MP, Kuik DJ et al. (2003) Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr*;22:23–30
- [46] Das UN, Repossi G, Dain A, Eynard AR. (2011) L-arginine, NO and asymmetrical dimethylarginine in hypertension and type 2 diabetes. *Front Biosci*. Jan 1;16:13–20.
- [47] Ito A, Egashira K, Narishige T, Muramatsu K, Takeshita A. (2002) Angiotensin-converting enzyme activity is involved in the mechanism of increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circ J*; 66: 811–815.,
- [48] Delles C, Schneider MP, John S, Gekle M, Schmieder RE. (2002) Angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1-receptor blockade reduce the levels of asymmetrical N (G), N (G) -dimethylarginine in human essential hypertension. *Am J Hypertens*; 15: 590–593
- [49] Yilmaz MI, Saglam M, Sonmez A, Caglar K, Cakir E. (2007) Improving proteinuria, endothelial functions and asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease: ramipril versus valsartan. *Blood Purif.*;25 (4):327–35.
- [50] Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M, Qureshi AR, Carroero JJ et al. (2008) ADMA levels correlate with proteinuria, secondary amyloidosis, and endothelial dysfunction.. *J.Am.Soc. Nephrol.*;19 (2):388–95
- [51] Cayci T, Akgul EO, Gulcan Kurt Y, Ceyhan TS, Aydin I et al. (2011) The levels of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in the rat endometriosis model., *J Obstet Gynaecol Res. (ISI)*, Apr 12, DOI: 10.1111/j.1447–0756. (2010).01482.x.
- [52] Cakir E, Ozcan O, Yaman H, Akgul EO, Bilgi C et al. (2005) Elevated plasma concentration of asymmetric dimethylarginine that is reduced by single dose testosterone administration in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.*; 90 (3):1651–4.
- [53] Celik C, Cayci T, Ozdemir B, Akgul EO, Zincir S et al. (2011) Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentrations in patients with first and multiple episode schizophrenia. *Psychiatry Res. Aug 11*. [Epub ahead of print]
- [54] Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S et al. (1999) Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation*; 99 (9):1141–46.
- [55] Böger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* (1998); 98:1842–47.
- [56] Sahin M, Arslan C, Naziroglu M, Tunc SE, Demirci M et al. (2006) Asymmetric dimethylarginine and nitric oxide levels as signs of endothelial dysfunction in Behcet’s disease. *Ann Clin Lab Sci.*;36 (4):449–54
- [57] Hermenegildo C, Medina P, Peiro M, Segarra G, Vila JM et al. (2002) Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in hyperthyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab*;87:5636–40
- [58] Rawal N, Lee YJ, Whitaker JN, Park JO, Paik WK et al. (1995) Urinary excretion of NG dimethylarginines in multiple sclerosis patients: preliminary observations. *J Neurol Sci* 129:186–91
- [59] Schnog JB, Teerlink T, van der Dijs FP, Duits AJ, Muskiet FA; (2005) CURAMA Study Group. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, are elevated in sickle cell disease. *Ann Hematol*;84:282–286
- [60] Schulze F, Wesemann R, Schwedhelm E, Sydow K, Albsmeier J. et al. (2004) Determination of asymmetric dimethylarginine (ADMA) using a novel ELISA assay. *Clin Chem Lab Med*; 42:1377–83
- [61] Valtonen P, Karppi J, Nysson K, Valkonen VP, Halonen T et al. (2005) Comparison of
- [62] HPLC method and commercial ELISA assay for asymmetric dimethylarginine (ADMA) determination in human serum. *J Chrom B*;828:97–102
- [63] Martens-Lobenhoffer J, Westphal S, Awiszus F, Bode-Boger SM, Luley C. (2005) Determination of asymmetric dimethylarginine: liquid chromatography-mass spectrometry or ELISA? *Clin Chem*;51:2188–9