

## Koncentrácie asymetrického dimetylarginínu ako marker kardiovaskulárneho rizika

<sup>1</sup>VIOLA VARGOVÁ, <sup>2</sup>MAREK PYTLIAK, <sup>3</sup>VIOLA MECHÍROVÁ, <sup>4</sup>JÁN FEDAČKO  
Košice, Slovenská republika

VARGOVÁ V, PYTLIAK M, MECHÍROVÁ V, FEDAČKO J. **Koncentrácie asymetrického dimetylarginínu ako marker kardiovaskulárneho rizika.** *Cardiol* 2008;17(4):157–161

Oxid dusnatý je dôležitou signálnou molekulou. Zohráva dôležitú úlohu nielen v regulácii vaskulárneho tonusu, ale má aj antitrombotické a antiproliferatívne účinky. Je syntetizovaný niekoľkými formami enzýmu NO-syntáza, ktoré môžu byť inhibované metylovanými formami aminokyseliny L-arginínu, najmä asymetrickým dimetylarginínom. Zvýšené koncentrácie asymetrického dimetylarginínu sa zistili pri rozličných ochoreniach, napríklad pri zlyhaní obličiek, diabetes mellitus, artériovej hypertenzii a pľúcnej hypertenzii a sú silným prediktorom skorého rozvoja kardiovaskulárnych ochorení alebo kardiovaskulárneho úmrtia pri týchto ochoreniach. Viaceré epidemiologické a prospektívne štúdie dokázali, že asymetrický dimetylarginín je novým markerom kardiovaskulárnych ochorení.

**Kľúčové slová:** NO-syntáza – asymetrický dimetylarginín – ADMA – kardiovaskulárne riziko – rizikové faktory

VARGOVA V, PYTLIAK M, MECHIROVA V, FEDACKO J. **Concentrations of asymmetrical dimethylarginine as a marker of cardiovascular risk.** *Cardiol* 2008;17(4):157–161

Nitric oxide is an important signalling molecule. It plays a role not only in vasodilation, but also has antithrombotic and antiproliferating effects. It is synthesised by a group of enzymes simply known as nitric oxide synthases, which can be inhibited by methylated forms of the amino acid L-arginine, especially by asymmetrical dimethylarginine. Asymmetrical dimethylarginine accumulates in various disease states, including renal failure, diabetes, hypertension and pulmonary hypertension, and its plasma concentration is predictive of premature cardiovascular disease and death in these states. Recent epidemiological and prospective studies support the suggestion that asymmetrical dimethylarginine is a novel marker of cardiovascular risk.

**Key words:** NO-synthase – Asymmetrical dimethylarginine – ADMA – Cardiovascular risk – Risk factors

Výskyt „tradičných“ rizikových faktorov aterosklerózy (hypertenzia, hypercholesterolémia, diabetes mellitus a fajčenie) u určitej skupiny obyvateľstva zvyšuje riziko kardiovaskulárnych ochorení v tejto skupine. Keďže výsledný efekt expozície týmito rizikovými faktormi (endotelová dysfunkcia, tvorba a ruptúra aterómového plaku) je rovnaký, je pravdepodobné, že rozličné rizikové faktory majú spoločný patobiologický mechanizmus. Spoločným mechanizmom porušenia endotelovej funkcie je pokles produkcie NO mediovaný endogénnymi inhibítormi NO-syntázy (NOS), najmä asymetrickým dimetylarginínom (ADMA).

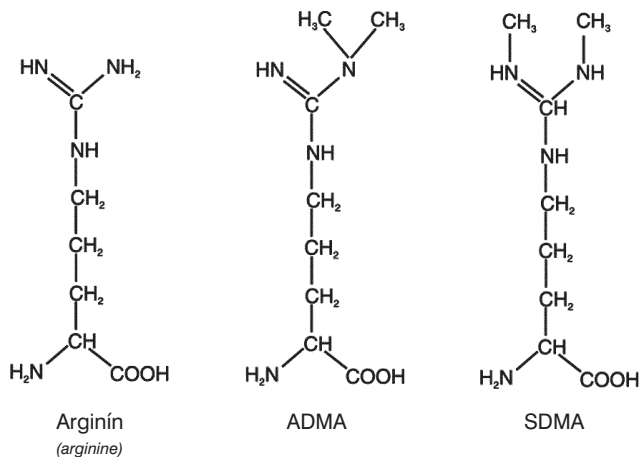
Látku, pôvodne označovanú ako EDRF (endothelium derived relaxing factor), neskôr identifikovali ako oxid dusnatý – NO. Oxid dusnatý je najznámejším a aj najpotentnejším vazodilatátorom. Produkuje sa najmä v endotelových bunkách oxidáciou L-arginínu NADPH

dependentným enzýmom NO-syntetázou (NOS) za vzniku voľného NO a citrulínu. Jeho uvoľnenie vedie k fyziologickej vazodilatácii a relaxácii hladkých svalov ciev (1). Známe sú štyri izoformy NOS – endotelová eNOS, induktibilná iNOS, neurónová nNOS a mitochondriálna mtNOS (2). Endotelová eNOS je lokalizovaná v plazmalemma caveola endotelových buniek, blízko bielkoviny kaveolínu-1, ktorá inhibuje aktivitu eNOS. NO difunduje do hladkosvalových buniek a stimuluje aktivitu guanylátcyklázy, čo má za následok zvýšenie intracelulárnej koncentrácie cyklického guanozínmonofosfátu (cGMP). cGMP znižuje intracelulárnu koncentráciu Ca<sup>2+</sup>, čo vedie k relaxácii hladkosvalovej bunky (3). Oxid dusnatý tiež inhibuje agregáciu trombocytov mechanizmom závislým od cGMP (4). Okrem toho má antimitotický efekt na bunky hladkej svaloviny ciev, inhibuje syntézu adhézných molekúl a antagonizuje účinky endotelínu-1 (5). Je však známe, že pri tvorbe aterosklerotického plaku sa znižuje aktivita eNOS, a naopak, zvyšuje sa expresia iNOS v makrofágoch, endotelových bunkách plaku (pri normálnych podmienkach sa iNOS v endotelových bunkách neexprimuje) a v hladkosvalových bunkách média. To môže spôsobiť zvýšenie lokálnej produkcie NO, ktorý vo vyšších koncentráciách zvyšuje produkciu superoxidových radikálov a spätnou väzbou ďalej znižuje aktivitu eNOS (6).

Z <sup>1</sup>III. internej kliniky LF UPJŠ a FNLP, <sup>2</sup>Ústavu pre bakalárske a magisterské štúdiá, LF UPJŠ, <sup>3</sup>I. internej kliniky LF UPJŠ a FNLP a <sup>4</sup>Kliniky preventívnej medicíny a telovýchovného lekárstva LF UPJŠ v Košiciach, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 7. apríla 2008; prijaté dňa 24. júna 2008

**Adresa pre korešpondenciu:** MUDr. Viola Vargová, PhD., III. interná klinika LF UPJŠ a FNLP, Rastislavova 43, 040 11 Košice, Slovenská republika, e-mail: viola\_mechirova@yahoo.com

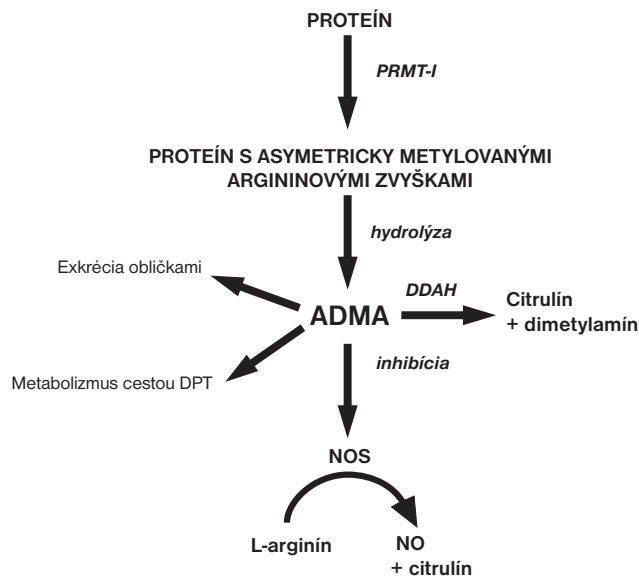


**Obrázok 1** Štruktúra L-arginínu, asymetrického dimetylarginínu a symetrického dimetylarginínu  
**Figure 1** Structure of L-arginine, asymmetrical dimethylarginine and symmetrical dimethylarginine  
 ADMA – asymetrický dimetylarginín (*asymmetrical dimethylarginine*), SDMA – symetrický dimetylarginín (*symmetrical dimethylarginine*)

Vazodilatáciu závislú od NO možno farmakologicky inhibovať analógmi L-arginínu, napríklad L-N<sup>G</sup>-monometylarginínom (L-NMMA, MMA), L-nitroarginínmetylestrom (L-NAME) alebo N<sup>G</sup>, N<sup>G</sup>-dimetyl-L-arginínom (asymetrický dimetylarginín – ADMA) (**obrázok 1**), ktoré kompetitujú s prirodzeným prekursorom, L-arginínom, na katalytickom mieste NOS (6, 7). Plazmatické koncentrácie ADMA sú asi desaťnásobne väčšie ako koncentrácie MMA, preto sa väčšina štúdií zamerala na vplyv zvýšených koncentrácií asymetrického dimetylarginínu na kardiovaskulárne riziko.

### Vznik ADMA

Asymetrický dimetylarginín nevzniká metyláciou voľného L-arginínu, ale postranlačnou modifikáciou arginínových zvyškov v rôznych bielkovinách, najmä bielkovín v bunkovom jadre. Metyláciu arginínových zvyškov katalyzuje skupina enzýmov – proteín-arginín N-metyltransferázy (PRMT), pričom účinkom PRMT typu I vzniká ADMA a účinkom PRMT typu II vzniká jeho symetrický stereoizomér SDMA (symetrický dimetylarginín), ktorý nie je inhibítorom NOS (8). Je málo pravdepodobné, že zvýšené koncentrácie ADMA sú následkom zvýšenej aktivity PRMT-I. Metylácia proteínov je vysoko regulovaný proces a metylované bielkoviny zohrávajú množstvo úloh. Hoci aktivita PRMT *in vitro* bola ovplyvnená koncentraciami oxidovaných LDL častíc, je nepravdepodobné, že by sa regulácia ADMA *in vivo* uskutočňovala na tejto úrovni, pretože by sekundárne ovplyvňovala funkciu množstva rôznych jadrových bielkovín (9).



**Obrázok 2** Biochemické spôsoby vzniku a degradácie ADMA (modifikované podľa 11)  
**Figure 2** Biochemical paths of ADMA generation and degradation (Modified according to 11)  
 ADMA – asymetrický dimetylarginín (*Asymmetrical dimethylarginine*), DDAH – dimetylarginín dimetylaminohydroláza (*Dimethylarginine dimethylaminohydrolase*), DPT – dimetylarginín pyruvát aminotransferáza (*Dimethylarginine pyruvate aminotransferase*), NOS – NO-syntáza (*NO-synthase*), PRMT-I – proteín arginín N-metyltransferáza typ I (*Protein arginine N-methyltransferase type I*), Hydrolyzá (*Hydrolysis*), Inhibícia (*Inhibition*), Exkrécia obličkami (*Kidney excretion*), Metabolizmus cestou DPT (*Metabolism via DPT*), L-arginín (*L-arginine*), Citrullín (*Citrulline*), Dimetylamin (*Dimethylamine*), Proteín s asymetricky metylovanými arginínovými zvyškami (*Protein with asymmetric methylated arginine residues*), Proteín (*Protein*)

### Eliminácia ADMA

Ľudský organizmus za normálnych podmienok vyprodukuje asi 300 μmol (60 mg) ADMA denne. Z tohto množstva sa asi 50 μmol za deň vylúči močom, z čoho vyplýva, že koncentrácie asymetrického dimetylarginínu sa zvyšujú v terminálnom štádiu obličkového zlyhania (10, 11). Po transplantácii obličiek sa normalizujú koncentrácie SDMA, ale koncentrácie ADMA ostávajú zvýšené. Ide pravdepodobne o trvalé postihnutie degradačnej cesty asymetrického dimetylarginínu (12). Hlavná metabolická degradácia ADMA (ale nie SDMA) prebieha hydrolyzou na dimetylamin a citrullín (**obrázok 2**). Reakciu katalyzuje enzým dimetylarginín dimetylaminohydroláza (DDAH) (13). Práve aktivita tohto enzýmu sa zdá byť kľúčová pre reguláciu koncentrácie asymetrického dimetylarginínu a tým aj na ovplyvnenie endotelovej funkcie. Zdá sa, že všetky „klasické“ a veľká väčšina ostatných rizikových faktorov aterosklerózy ovplyvňuje práve aktivitu DDAH a tým aj koncentrácie ADMA. Ovplyvnenie DDAH je teda pravdepodobne centrálnym „spájacím“

patomechanizmom, ktorým kardiovaskulárne rizikové faktory narúšajú tvorbu NO a tým poškodzujú endotelovú funkciu a vedú k vzniku aterosklerotického poškodenia (14).

### ADMA a kardiovaskulárne riziko

Hodnoty plazmatických koncentrácií ADMA u zdravých ľudí sa pohybujú v rozmedzí 0,3 – 1,0  $\mu\text{mol/l}$  v závislosti od použitej stanovovacej metódy (15). Dokázala sa asociácia medzi zvýšenými koncentraciami ADMA a rôznymi rizikovými faktormi kardiovaskulárnych ochorení.

ADMA sa podieľa na regulácii vaskulárnej rezistencie. Intraartériová infúzia asymetrického dimetylarginínu redukuje endotel-dependentnú (NO-dependentnú) vazodilatáciu v tepnách predlaktia. Navyše, intravenózna infúzia ADMA, ktorá spôsobí približne trojnásobný nárast koncentrácie ADMA v sére, zvýši u zdravých ľudí systémovú cievnú rezistenciu o približne 25 % (7). Zvýšené koncentrácie ADMA sa objavujú ešte pred vznikom zvýšenej cievnej rezistencie pozorovanej v starobe a u pacientov s hypertenziou a srdcovým zlyhaním. U pacientov s terminálnym renálnym zlyhaním koncentrácie ADMA súviseli priamo s hrúbkou a hmotou ľavej komory a nepriamo s ejekčnou frakciou, čo je pravdepodobne dôsledkom účinku ADMA na systémovú rezistenciu (16).

V japonskej štúdií s hypertenzívnymi pacientmi koncentrácie ADMA a vek súviseli so zníženou koronárnou rezervou a poruchou endotel-dependentnej vazodilatácie na brachiálnej artérii (17). Aj iní autori potvrdili zvýšené koncentrácie asymetrického dimetylarginínu u pacientov s hypertenziou (18).

Výsledky štúdií zaoberajúcich sa koncentraciami ADMA u pacientov s inzulínovou rezistenciou a diabetes mellitus sú nekonzistentné. Kým McLaughling a spol. (19) potvrdili vyššie koncentrácie ADMA u obéznych žien s inzulínovou rezistenciou oproti obéznym ženám bez inzulínovej rezistencie, kolumbijskí autori tento vzťah nepotvrdili (20). V prospektívnej štúdií s pacientmi s diabetes mellitus 1. typu však koncentrácie asymetrického dimetylarginínu nepriamo súviseli s obličkovými funkciami a boli nezávislým prediktorom fatálnej alebo nefatálnej kardiovaskulárnej príhody počas vyše jedenásťročného sledovania (21).

Fajčenie, ako ďalší z „veľkých“ rizikových faktorov aterosklerózy, signifikantne zvyšuje plazmatické koncentrácie ADMA a znižuje produkciu oxidu dusnatého. V rovnakej štúdií autori nenašli asociáciu medzi koncentraciami ADMA a celkového cholesterolu, LDL cholesterolu, triacylglycerolmi a HDL cholesterolu, avšak pomer celkový cholesterol/HDL cholesterol, ktorý je presnejším markerom koronárneho rizika, pozitívne súvisel s koncentraciami asymetrického dimetylarginínu (22).

V **tabulke 1** je uvedený prehľad prospektívnych štúdií, ktoré sledovali koncentrácie ADMA a riziko kardio-

**Tabulka 1** Riziko kardiovaskulárnych príhod u pacientov v hornom kvartile (tercile) oproti pacientom v dolnom kvartile (tercile) a koncentrácií ADMA v jednotlivých štúdiách

**Table 1** Risk of cardiovascular events in patients in upper quartile (tertile) against patients in the lower quartile (tertile) of ADMA concentration in several studies

Štúdia/autor (Study/author)	Pacienti/ochorenie (Patients/Disease)	Endpoint	Počet pacientov (Number of patients)	Čas sledovania (Period of monitoring)	Zvýšenie rizika (Risk)
AtheroGene Study (2005) (23)	Stabilná ICHS (Stable CHD)	Úmrtie, IM, NCMP (Death, MI, stroke)	1908	30 mesiacov (Months)	2,48 x
Duckelmann et al. (2007) (24)	CHSZ (CHF)	Kardiálna dekompenzácia, Úmrtie (Cardial decompensation, death)	253 (Months)	14,2 mesiaca	2,0 x
Lajer et al. (2008) (21)	DM 1. typu s rozvinutou diabetickou nefropatiou (DM type 1. with diabetic nephropathy)	Fatálna a nefatálna KV príhoda (Fatal and nonfatal CV event)	572	11,3 rokov (Years)	1,85 x
Lu et al. (2003) (25)	Stabilná ICHS (Stable CHD)	KV príhoda (CV event)	153	16 mesiacov (Months)	5,3 x
Mittelmayer et al. (2006) (26)	Periférne artériové ochorenie (Peripheral artery disease)	Fatálna a nefatálna KV príhoda (Fatal and nonfatal CV event)	496	12 mesiacov (Months)	1,53 x
Nijveldt et al. (2003) (27)	Kriticky chorí pacienti (Critically ill patients)	Úmrtie (Death)	52	Krátkodobý (Short-term monitoring)	17,2 x
Valkonen et al. (2001) (28)	Stabilná ICHS (Stable CHD)	Akútny koronárny syndróm (Acute coronary syndrome)	150	7,7 rokov (Years)	3,9 x
Zoccali et al. (2001) (29)	Terminálne renálne zlyhanie (Terminal renal failure)	Fatálna a nefatálna KV príhoda (Fatal and nonfatal CV event)	225	33,4	26 % na každý 1 $\mu\text{mol/l}$ (26% for every 1 $\mu\text{mol/l}$ )

ICHS – ischemická choroba srdca (CHD – Coronary heart disease), CHSZ – chronické srdcové zlyhanie (CHF – Chronic heart failure), DM – diabetes mellitus, IM – infarkt myokardu (MI – Myocardial infarction), NCMP – náhla cievna mozgová príhoda, KV – kardiovaskulárna (CV – Cardiovascular)

vaskulárnej morbidity a mortality u pacientov s rozličnými základnými ochoreniami. Vo všetkých štúdiách sa potvrdilo niekoľkonásobne vyššie kardiovaskulárne riziko u jedincov s vyššími koncentraciami plazmatického asymetrického dimetylarginínu.

Počas normálneho tehotenstva dochádza na začiatku k miernemu poklesu krvného tlaku s čiastočnou úpravou hodnôt tlaku v treťom trimestri. Tieto zmeny sú spravované zmenami koncentrácií asymetrického dimetylarginínu. V prvých dvoch trimestroch nastáva mierny pokles jeho plazmatických koncentrácií, v treťom trimestri sa koncentrácie upravujú na bazálne hodnoty. U žien s preeklampsiou sa zistili signifikantne vyššie koncentrácie ADMA. Zvýšené koncentrácie ADMA a porucha endotelovej funkcie boli zistené ešte pred rozvojom príznakov preeklampsie (30).

Keďže NO nepôsobí len vazodilatačne, ale má aj antitrombotické a antiproliferatívne účinky, ovplyvňuje ADMA (cestou NOS) nielen reaktivitu, ale aj štruktúru ciev. Po poškodení endotelu sa zvyšujú intracelulárne koncentrácie ADMA v bunkách prekrývajúcich defekt a tým sa znižuje aj vazodilatačná schopnosť týchto buniek. Stupeň poškodenia endotelovej funkcie a intracelulárne koncentrácie ADMA priamo súvisia s hrúbkou intimy postihnutej cievy. Koncentrácie asymetrického dimetylarginínu zohrávajú úlohu aj pri rozvoji restenózy po perkutánnej koronárnej intervencii (PCI). V koronarografickej štúdií so zavedením stentu dostali pacienti jednorazovú intramurálnu dávku L-arginínu alebo placebo (vehikula). Intravaskulárny ultrazvuk po šiestich mesiacoch potvrdil 36 % redukcii neointimálneho objemu v skupine pacientov, ktorí dostali L-arginín (31). Expozícia endotelových buniek v kultúre patofyziologicky rozhodujúcim koncentraciám ADMA vedie k redukcii produkcie NO, zvýšenej produkcii superoxidových radikálov a zvýšenej adhezivite endotelových buniek pre monocyt. Mononukleáry pacientov s hypercholesterolemiou vykazujú hyperadhezivitu, ktorá pravdepodobne závisí od koncentrácií ADMA, pretože sa upravuje po suplementácii L-arginínu. Podobne, trombocyty hypercholesterolemických pacientov sú hyperreaktívne a aj táto situácia sa upravuje po podaní L-arginínu (32).

Endotelová NOS zohráva dôležitú úlohu aj v regulácii endotelových progenitorových buniek (endothelial progenitor cells – EPC) a v procese opravy poškodeného endotelu. Niektoré štúdie potvrdili asociáciu medzi zníženými hodnotami EPC a výskytom kardiovaskulárnych príhod. Multivariantnou analýzou sa potvrdilo, že znížený počet EPC je signifikantný a nezávislý rizikový marker zlej prognózy po kardiovaskulárnej príhode, a to aj po zohľadnení tradičných rizikových faktorov. V ďalšej štúdií autori potvrdili negatív-

ny vzťah medzi koncentraciami ADMA a počtom cirkulujúcich EPC u pacientov s ischemickou chorobou srdca. *In vitro* sa dokázala úloha ADMA ako endogénneho inhibítora mobilizácie, diferenciacie a funkcie EPC. Zvýšené kardiovaskulárne riziko pacientov s vyššími koncentraciami asymetrického dimetylarginínu preto pravdepodobne súvisí aj so zníženým počtom a poruchou funkcie cirkulujúcich endotelových progenitorových buniek (33).

Z uvedeného vyplýva, že koncentrácie ADMA sa spájajú s kritickými procesmi rozvoja a progresie aterosklerotického poškodenia ciev. Japonská štúdia, ktorá zahŕňala pacientov s rozličným rizikom kardiovaskulárnej príhody, preukázala, že koncentrácie ADMA, vek a systolický tlak súvisia s intimo-mediálnou hrúbkou karotíd (34). Podobne hrúbka intimy a. uterina po hysterektómii vzájomne súvisela s koncentraciou asymetrického dimetylarginínu (35).

Pri periférnej artériovej oklúznej chorobe sa zistila závislosť medzi koncentraciami ADMA a závažnosťou ochorenia. Intravenózna infúzia L-arginínu signifikantne zlepšuje prekrvenie končatín a predlžuje klaudikačnú vzdialenosť (36).

## Záver

Zvýšené plazmatické koncentrácie asymetrického dimetylarginínu sú častým nálezom v klinických situáciách, ktoré sa spájajú s vyšším kardiovaskulárnym rizikom. Otázkou, ktorú je ešte potrebné definitívne objasniť je, či toto zvýšenie nesúvisí iba s väčším poškodením obličkového parenchýmu u pacientov s vyšším rizikom kardiovaskulárnej príhody. Výsledky viacerých štúdií však potvrdzujú, že koncentrácie ADMA sú dobrým markerom zvýšeného rizika kardiovaskulárnej morbidity a mortality v skupinách pacientov s rovnakým ochorením, a preto by v budúcnosti mohli slúžiť na stratifikáciu týchto pacientov, čo bude mať vplyv na ďalší manažment ochorenia. Nález vyšších koncentrácií asymetrického dimetylarginínu u pacienta s iným ochorením zvyšujúcim kardiovaskulárne riziko umožní hneď od začiatku zaujať agresívnejší prístup k liečbe tohto ochorenia. Naopak, u pacientov s nízkymi koncentraciami ADMA, bude oddôvodnený aj konzervatívnejší terapeutický postoj. Stanovenie koncentrácií asymetrického dimetylarginínu môže takto v budúcnosti prispieť k našej snahe „ušetriť“ pacientovi liečbu na mieru.

## Literatúra

1. Fleming I, Busse R. NO: the primary EDRF. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:5–14.
2. Fostermann U, Closs EI, Pollock M, et al. Nitric oxide synthase isoenzymes: characterization, purification, molecular cloning and functions. *Hypertension* 1993;23:1121–131.

3. Rappoport RM, Draznin MB, Murad F. Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature* 1983;306:174–176.
4. Pigazzi A, Heydrick S, Folli F, et al. Nitric oxide inhibits thrombin receptor-activating peptide-induced phosphoinositide 3-kinase activity in human platelets. *J Biol Chem* 1999;274:14368–14375.
5. Marks DS, Vita JA, Folts J, et al. Inhibition of neointimal proliferation in rabbits after vascular injury by a single treatment with protein adduct of nitric oxide. *J Clin Invest* 1995;96:2630–2638.
6. Chowieniczky PJ, Cockcroft JR, Ritter JM. Differential inhibition by N<sup>6</sup>-monomethyl-L-arginine of vasodilator effects of acetylcholine and metacholine in human forearm vasculature. *Br J Pharmacol* 1993;110:736–738.
7. Nathan C, Xie Q-W. Nitric oxide synthases: Roles, tolls and controls. *Cell* 1994;78:915–918.
8. Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atherosclerosis* 2003(Suppl);4:33–40.
9. Böger RH, Sydow K, Borlak J, et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 2000;87:99–105.
10. Vallance P, Leone A, Calver A, et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992;339:572–575.
11. Široká R, Cibulka R, Rajdl D, et al. Asymmetric dimethylarginine – a novel cardiovascular risk factor. *Vnitr Lek* 2006;52:249–255.
12. McDermott JR. Studies on the catabolism of NG-methylarginine, NG,N<sup>6</sup>-dimethylarginine and NG,NG-dimethylarginine. *Biochem J* 1976;154:179–184.
13. Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, et al. Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Nat Struct Biol* 2001;8:679–683.
14. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, et al. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999;99:3092–3092.
15. Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovascular Research* 1999;43:542–548.
16. Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, et al. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodelling, and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;62:339–345.
17. Takiushi S, Fujii H, Kamide K, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and coronary and peripheral endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2004;17:802–808.
18. Li J, Zhou Z, Jiang D, et al. Reduction of NO- and EDHF-mediated vasodilatation in hypertension: role of asymmetric dimethylarginine. *Clin Exp Hypertens* 2007;29:489–501.
19. McLaughlin T, Stuhlinger M, Lamendola C, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations are elevated in obese insulin-resistant women and fall with weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1896–1900.
20. Garcia RG, Perez M, Maas R, et al. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in metabolic syndrome. *Int J Cardiol* 2007;122:176–178.
21. Lajer M, Tarnow L, Jorsal A, et al. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2008;31:747–752.
22. Wang J, Sim AS, Wang XL, et al. Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease. *Atherosclerosis* 2006;184:383–388.
23. Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from AtheroGene Study. *Circ Res* 2005;97:e53–e59.
24. Duckelmann C, Mittermayer F, Haider DG, et al. Asymmetric dimethylarginine enhances cardiovascular risk prediction in patients with chronic heart failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2037–2042.
25. Lu TM, Ding YA, Lin SJ, et al. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2003;24:1912–1919.
26. Mittermayer F, Krzyzanowska K, Exner M, et al. Asymmetric dimethylarginine predicts major adverse cardiovascular events in patients with advanced peripheral artery disease. *Thromb Vasc Biol* 2006;26:2536–2540.
27. Nijveldt RJ, Teerlink T, van der Hove B, et al. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent factor of ICU mortality. *Clin Nutr* 2003;22:23–30.
28. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001;358:2127–2128.
29. Zoccali C, Boge-Boger S, Mallamaci F, et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001;358: 2113–2117.
30. Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, et al. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003;361:1511–1517.
31. Suzuki T, Hayase M, Hibi K, et al. Effect of local delivery of L-arginine on in-stent restenosis in humans. *Am J Cardiol* 2002;89:363–367.
32. Chan J, Böger R, Bode-Böger S, et al. Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 2000;20:1040.
33. Thum T, Bauersachs J. ADMA, endothelial progenitor cells and cardiovascular risk. *Circ Res* 2005;97:84–85.
34. Furuki K, Adachi H. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) are related to intima-media thickness of the carotid artery: an epidemiological study. *Atherosclerosis* 2007;191:206–210.
35. Beppu M, Obayashi S, Aso T, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors in endothelial cells, endothelin-1 within the vessel wall, and intimal hyperplasia in perimenopausal human uterine arteries. *J Cardiolvas Pharmacol* 2002;39:192–200.
36. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W. Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1336–1344.