

Асимметричный диметиларгинин и его роль в этиологии и патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний

Р.Н. Родионов¹, И.О. Блохин^{1,2,3}, М.М. Галагудза^{2,3}, Е.В. Шлякто^{2,3}, С.Р. Лентц¹

¹ Университет Айовы, Айова Сити, США

² Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Асимметричный диметиларгинин (ADMA) представляет собой метилированное производное аминокислоты L-аргинина. Будучи структурным аналогом L-аргинина, ADMA обладает способностью ингибировать синтазу оксида азота (NO), что приводит к уменьшению образования NO в кровеносных сосудах и других тканях. В последние годы значительное внимание исследователей привлекает потенциальная роль ADMA в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Несмотря на то, что существование корреляции между повышением уровня ADMA в плазме крови и развитием эндотелиальной дисфункции, а также сосудистых осложнений было подтверждено во многих эпидемиологических и экспериментальных исследованиях, причинно-следственная связь повышения ADMA и развития сердечно-сосудистых заболеваний остается не доказанной. Для того, чтобы с точностью ответить на вопрос о том, является ли ADMA этиологическим фактором или всего лишь биологическим маркером сердечно-сосудистых заболеваний, требуются дополнительные исследования, посвященные биохимическим, генетическим и фармакологическим аспектам метаболических превращений ADMA.

Ключевые слова: асимметричный диметиларгинин, сердечно-сосудистые заболевания, фактор риска, синтаза оксида азота.

Asymmetric dimethylarginine and its role pathogenesis of cardiovascular diseases

R.N. Rodionov¹, I.O. Blokhin^{1,2,3}, M.M. Galagudza^{2,3}, E.V. Shlyakhto^{2,3}, S.R. Lentz¹

¹Department of Internal Medicine, University of Iowa Carver College of Medicine, Iowa City, USA;

²V.A. Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Center, St-Petersburg, Russian Federation;

³I.P. Pavlov Medical University, St-Petersburg, Russian Federation

Resume

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is a methylated derivative of the amino acid L-arginine that is receiving increasing attention as a cardiovascular risk factor. As a structural analog of L-arginine, ADMA can inhibit the activity of nitric oxide (NO) synthase, resulting in decreased NO production in blood vessels and other tissues. While substantial epidemiological and experimental evidence links elevated levels of ADMA with endothelial dysfunction and adverse vascular events, the causative role of ADMA in cardiovascular diseases remains still largely unproven. To definitively determine whether ADMA is a biomarker or a causative risk factor, a better understanding of the biochemistry, genetics, and pharmacology of the ADMA metabolic pathways is needed.

Key words: asymmetric dimethylarginine, cardiovascular disease, risk factor, nitric oxide synthase.

Статья поступила в редакцию: 24.12.08. и принята к печати: 26.12.08.

Введение

В последние годы отмечается повышенный интерес в отношении асимметричного диметиларгинина (ADMA) как фактора риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Являясь структурным аналогом L-аргинина, ADMA ингибирует активность всех изоформ синтазы оксида азота (NOS), вызывая нарушение механизмов образования оксида азота в плазме крови и тканях. В 1992 году было впервые показано, что увеличение концентрации ADMA приводит к значительному снижению выработки оксида азота [1]. Известно, что оксид азота играет важную роль в регуляции сосудистого тонуса, и в последующих работах была установлена строгая корреляция между уровнем ADMA в плазме и частотой развития сердечно-сосудистых событий [2]. К настоящему времени опубликовано более 800 экспериментальных и клинических исследований, посвященных вопросам метаболизма ADMA и роли

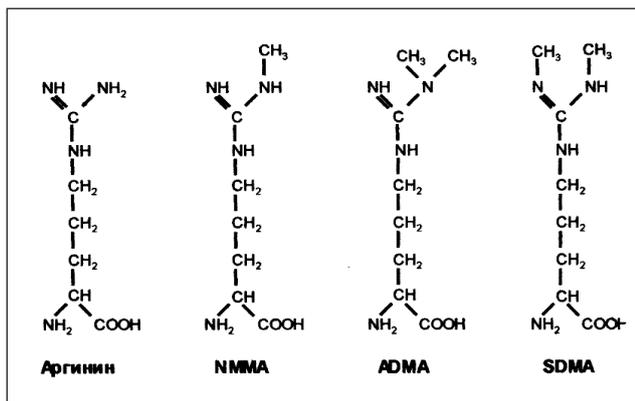
данного вещества в механизмах развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Эндогенные метиларгинины и “аргининовый парадокс”

В ряде экспериментальных исследований было показано, что введение L-аргинина оказывает влияние на интенсивность вазомоторных реакций *in vivo* [3–5] несмотря на то, что концентрация эндогенного L-аргинина в плазме крови в норме в 30 раз выше константы Михаэлиса-Ментен (Km) для L-аргинина в реакции, катализируемой очищенной NOS [3, 6]. Сохраняющееся влияние L-аргинина на сосудистый тонус в этих условиях поначалу считалось парадоксальным, поскольку предполагалось, что NOS исходно полностью насыщена субстратом (L-аргинином), и, таким образом, дополнительное экзогенное его введение не должно влиять на интенсивность образования оксида азота [5]. Несколько позднее были описаны такие эндогенные

гуанидин-метилированные аналоги L-аргинина, как N^G-мометил-L-аргинин (NMMA), симметричный N^G,N^G-диметил-L-аргинин (SDMA) и асимметричный N^G,N^G-диметил-L-аргинин (ADMA) (рис. 1) [7]. В настоящее время известно, что два из них, NMMA и ADMA, способны конкурентно ингибировать NOS [8–9]. Этот факт позволяет объяснить “аргининовый парадокс”, поскольку для насыщения NOS в присутствии ее эндогенных ингибиторов может требоваться гораздо более высокая концентрация субстрата, обеспечиваемая, в частности, экзогенным введением последнего.

Рисунок 1. Химическая структура аргинина и эндогенных метиларгининов



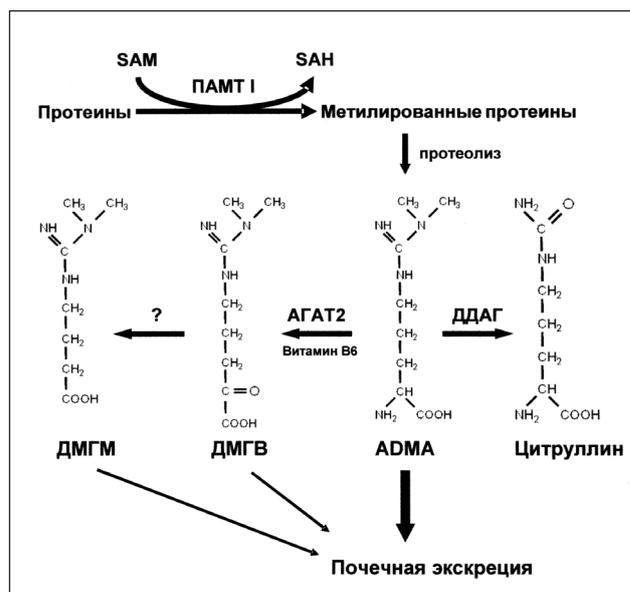
Примечания: NMMA — N^G-мометиларгинин; ADMA — асимметричный N^G,N^G-диметиларгинин; SDMA — симметричный N^G,N^G-диметиларгинин.

Остается неясным, какой из указанных метиларгининов — ADMA или NMMA — вносит наибольший вклад в регуляцию NOS *in vivo*. Принято считать, что ADMA в физиологических условиях является более сильным ингибитором, чем NMMA, так как концентрация первого в плазме крови превышает таковую второго в пять раз [10–11]. С другой стороны, имеются данные, что в некоторых тканях NMMA может иметь большее или, по крайней мере, столь же большое значение, что и ADMA. Так, Уено и соавт. показали на лизатах миокарда, печени и скелетной мышцы крысы, что уровень NMMA в этих тканях выше, чем уровень ADMA [12], что, однако, не дает ответа на вопрос об их сравнительной эффективности. К сожалению, большинство исследований, посвященных изучению роли эндогенных метиларгининов в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, сконцентрированы на измерении ADMA, так что роль NMMA как ингибитора синтеза оксида азота остается противоречивой.

Продукция ADMA

К настоящему времени мы не располагаем данными о существовании у млекопитающих ферментов, способных осуществлять метилирование свободного L-аргинина. В то же время идентифицированы трансферазы, способные метилировать аргининовые остатки, входящие в состав белковых молекул, — протеин-аргинин N-метилтрансферазы (ПАМТ). ПАМТ переносят метильные группы от S-аденозилметионина к остаткам аргинина, входящим в состав белков, с образованием побочного продукта — S-аденозилгомоцистеина. Последующий протеолиз метилированных белков приводит к высвобождению ADMA, SDMA и NMMA (рис. 2) [13].

Рисунок 2. Метаболизм ADMA



Примечания: Определенные белки, включая гистоны и РНК-связывающие протеины, являются объектами метилирования аргининовых остатков, входящих в их состав, посредством протеин-аргинин N-метилтрансферазы первого типа (ПАМТ I). ПАМТ I используют S-аденозилметионин (SAM) как донор метильных групп и производят S-аденозилгомоцистеин (SAH) как побочный продукт. ADMA высвобождается при протеолизе метилированных протеинов. В дальнейшем ADMA может быть гидролизован в цитруллин посредством диметиларгинин диметиламиногидролазы (DDAH) или в α-кето-δ-(N,N-диметилгуанидино)валериановую кислоту (DMGV) посредством аланин-глиоксилат аминотрансферазы 2 (AGAT-2) посредством витамина B6-зависимым ферментом. Впоследствии DMGV может быть метаболизирована в γ-(N,N-диметилгуанидино-) масляную кислоту (DMGM) посредством фермента, который в настоящее время неизвестен. ADMA, DMGV и DMGM экскретируются почками.

Известно, что субстратами ПАМТ являются, в частности, белки процессинга РНК, гистоны и транскрипционные факторы [13]. Выделяют два типа ПАМТ: ПАМТ I и ПАМТ II. Метилтрансферазы первого типа монометируют и ассиметрично диметируют аргинин, входящий в состав белков, что приводит к образованию NMMA и ADMA, в то время как ПАМТ второго типа монометируют и симметрично диметируют аргинин, в результате чего образуются NMMA и SDMA [14–15]. Таким образом, ПАМТ первого типа являются единственными известными ферментами, ответственными за генерацию ADMA у млекопитающих (рис. 2). К настоящему времени у млекопитающих открыто семь различных генов ПАМТ, пять из которых кодируют изоформы ПАМТ первого типа: 1–4 и 6 [13]. Как было показано в исследовании Tang и соавт., выполненном на мышцах, ведущую роль в продукции ADMA играет первая изоформа ПАМТ I [16].

Транспорт ADMA

Известно, что ADMA, образовавшийся в результате гидролиза белков, содержащих метилированные остатки аргинина, может подвергаться внутриклеточному гидролизу или транспортироваться во внеклеточное пространство, однако механизм транспорта ADMA остается малоизученным. В частности, в экспериментах на ооцитах лягушек *Xenopus laevis* показано, что у+ пере-

носчик катионных аминокислот (САТ–2В) принимает участие в транспорте L-аргинина и ADMA через плазматическую мембрану. Интересно, что ADMA и L-аргинин конкурируют за связывание с данным транспортером, что теоретически может приводить к ингибированию транспорта L-аргинина при повышении концентрации ADMA [17]. Остается неясным, участвует ли САТ–2В в транспорте ADMA *in vivo*, является ли данный переносчик единственной транспортной системой для ADMA, и, если нет, какие другие системы вовлечены в транспорт ADMA, и каков их относительный вклад.

Метаболизм и выведение ADMA

Наиболее важные данные, проливающие свет на метаболизм ADMA, представлены в работах Ogawa и соавт. [18]. В частности, при внутривенном введении крысам меченого ADMA было продемонстрировано следующее распределение радиоактивных молекул: 14% ADMA выводилось с мочой, 2% — с выдыхаемым углекислым газом, а оставшиеся 86% ADMA аккумуляровались преимущественно в почках, печени и поджелудочной железе в форме цитруллина. В последующих работах Ogawa и соавт. идентифицировали два фермента, ответственных за гидролиз ADMA: диметиларгинин диметиламиногидролазу (ДДАГ) [19] и аланин-глиоксилат аминотрансферазу 2 (АГАТ-2) [20]. Активность указанных ферментов позволяет объяснить наличие всех наблюдаемых радиоактивных метаболитов ADMA, за исключением ацетилированного производного — N^α-ацетил-N^ω,N^ω-диметил-L-аргинина [18, 21]. Ферментные системы, обеспечивающие ацетилирование ADMA, неизвестны, и их идентификация, равно как и оценка их вклада в метаболизм ADMA, требует дальнейших исследований.

В настоящее время установлено, что главный путь катаболизма ADMA связан с активностью ДДАГ, гидролизующей приблизительно 80% ADMA с образованием цитруллина и диметиламина (рис. 2) [19]. У млекопитающих выделяют две изоформы ДДАГ, ДДАГ1 и ДДАГ2, каждая из которых кодируется отдельным геном [22]. У человека ДДАГ1 экспрессируется преимущественно в центральной нервной системе, пищеварительной, дыхательной, выделительной системах, а также в половой системе мужчин, в то время как основными местами экспрессии ДДАГ2 являются клетки крови, костный мозг, сердечно-сосудистая, пищеварительная, выделительная системы, а также половая система женщин [23–24]. Кроме того, при проведении иммуногистохимического исследования было показано, что ДДАГ2 является основной формой ДДАГ в сосудах [24]. Фармакологическое ингибирование активности ДДАГ на изолированных сосудистых кольцах приводит к постепенной вазоконстрикции, купируемой добавлением L-аргинина [25]. Это позволяет предположить, что ADMA постоянно продуцируется в сосудистом русле, причем накоплению ADMA препятствует действие ДДАГ.

Помимо этого, описан альтернативный путь метаболизма ADMA, связанный с деятельностью АГАТ-2 (рис. 2) [10, 26]. АГАТ-2 — пиридоксальфосфат-зависимый митохондриальный фермент, экспрессируемый преимущественно в эпителиальных клетках петли Генле [27]. В результате АГАТ-2-опосредованного гидролиза

ADMA образуется α-кето-δ-(N,N-диметилгуанидино-) валериановая кислота (ДМГВ), которая в дальнейшем превращается в γ-(N,N-диметилгуанидино)масляную кислоту (ДМГМ) [19].

Так как нефропатии ассоциированы со значительным повышением концентрации ADMA в плазме [28], функция почек в настоящее время считается одним из главных факторов, определяющих метаболизм и уровень выведения ADMA. После инъекции меченого ADMA крысам мочевиная фракция метиларгининов была представлена либо неизменным ADMA, либо продуктами АГАТ-2-опосредованного гидролиза ADMA, а именно, ДМГВ и ДМГМ [18]. Таким образом, можно выделить два механизма почечного клиренса ADMA: прямой, если ADMA выводится в неизменной форме, и АГАТ-2-зависимый, если ADMA метаболизируется посредством АГАТ-2 и выводится в форме ДМГВ и ДМГМ.

ADMA плазмы крови

В физиологических условиях концентрация ADMA в плазме крови колеблется от 0,3 до 1,4 мкмоль/л [29]. Masuda и соавт. рассчитали, что внутриклеточная концентрация ADMA в эндотелиальных клетках сонной артерии кролика составляет 5 мкмоль/л [30]. Fagaci и соавт. показали, что добавление ADMA в концентрации 2 мкмоль/л в лизаты головного мозга достаточно для того, чтобы снизить активность NOS на 50% [5]. В совокупности указанные данные свидетельствуют, что концентрация ADMA в эндотелиальных клетках достаточна для того, чтобы ADMA мог играть важную роль в регуляции продукции оксида азота эндотелием *in vivo*.

Модели снижения уровня ADMA

В целях изучения физиологической роли ADMA несколькими группами исследователей были разработаны подходы, позволяющие понизить его уровень у лабораторных животных. Так, Dayoub и соавт. в опытах на трансгенных мышах показали, что гиперэкспрессия ДДАГ1 снижает уровень ADMA в плазме крови и тканях, а также увеличивает продукцию оксида азота [31]. Кроме того, у трансгенных по ДДАГ1 животных отмечалось усиление образования оксида азота в аорте и значительное ослабление вызванной ADMA эндотелиальной дисфункции в артериолах мозга [32]. Гиперэкспрессия второй изоформы ДДАГ также понижала уровень ADMA *in vivo* и предупреждала повышение артериального давления [33].

Существенные изменения фенотипа трансгенных по ДДАГ мышей свидетельствуют об эффективности данных моделей, демонстрирующих исключительно важную роль ADMA в метаболизме оксида азота. Однако необходимо учитывать важный недостаток трансгенных моделей, связанный с наличием у ДДАГ ряда ADMA-независимых внутриклеточных эффектов. В частности, имеются сведения о способности ДДАГ1 связываться с регулятором внутриклеточной передачи сигнала нефрофибрином 1 (НФ1) и повышать его взаимодействие с протеинкиназой А, что ведет к усилению фосфорилирования НФ1 [34]. Поскольку НФ1 регулирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток сосудов [35], логично предположить, что изменения сосудистого фенотипа, наблюдаемого у ДДАГ1-трансгенных мышей,

могут быть частично связаны с изменением функциональной активности НФ1. Кроме того, в опытах на культуре клеток, гиперэкспрессирующих ДДАГ2, также были обнаружены изменения внутриклеточных сигнальных каскадов в эндотелиальных клетках, ведущие к активации транскрипционного фактора Sp1 и последующей гиперэкспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста [36]. Нарушения этих и, возможно, других внутриклеточных путей передачи сигнала могут лежать в основе эффектов гиперэкспрессии ДДАГ, не зависящих от ADMA.

Использование мышей, трансгенных по АГАТ-2, также может в перспективе позволить изучить эффекты снижения уровня ADMA на сосудистый тонус. Преимуществом данного подхода является отсутствие дополнительных эффектов ДДАГ на внутриклеточные сигнальные пути.

Модели повышения уровня ADMA

В 1992 году Vallance и соавт. в пионерской работе показали, что внутривенная болюсная инфузия ADMA вызывает эндотелиальную дисфункцию плечевой артерии у здоровых волонтеров [1]. В дальнейшем Kielstein и соавт. продемонстрировали, что внутривенное введение ADMA у людей вызывает снижение кровотока в почках с одновременным повышением сопротивления сосудистой сети почки, что вызывало задержку натрия и повышение артериального давления [37]. Той же группой авторов на здоровых лицах было показано, что инфузия ADMA приводит к снижению перфузии головного мозга и увеличению ригидности мозговых артерий [38]. Во всех указанных исследованиях повышение концентрации ADMA в плазме крови было ассоциировано со снижением уровня оксида азота, что позволило авторам постулировать основополагающую роль ADMA в регуляции активности NOS. Однако Suda и соавт. предположили, что длительная инфузия ADMA может вызывать повреждение сосудов за счет механизмов, не зависящих от оксида азота. Авторами было показано, что введение ADMA в течение 4-х недель вызывало поражение мелких сосудов коронарного русла у мышей, не имеющих эндотелиальной изоформы NOS (eNOS). Повреждение сосудистой стенки при этом предупреждалось назначением ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) или блокаторов ангиотензиновых рецепторов I типа [39], что позволило авторам выдвинуть гипотезу о реализации повреждающих эффектов ADMA через активацию ренин-ангиотензиновой системы.

Другой подход, используемый для увеличения уровня ADMA в эксперименте, базируется на снижении экспрессии ДДАГ. В 2007 году Vallance и соавт. продемонстрировали, что снижение экспрессии фермента приводит к увеличению уровня ADMA в плазме и впоследствии к эндотелиальной дисфункции [40]. Кроме того, используя технологию выключения малой интерферирующей РНК, базирующуюся на избирательной блокаде гена, Wang и соавт. обнаружили, что прекращение функционирования ДДАГ2 вызывает эндотелиальную дисфункцию артериол брыжейки у мышей [24]. Таким образом, снижение активности любой из изоформ ДДАГ вызывает эндотелиальную дисфункцию, однако, как и при гиперэкспрессии ДДАГ, сложно опре-

делить, в какой степени наблюдаемый фенотип связан с увеличением уровня ADMA, а в какой — с ADMA-независимыми эффектами ДДАГ. Комбинированные методы увеличения уровня ADMA (например, понижение активности АГАТ-2 или увеличение продукции ADMA) могут помочь прояснить причинную роль ADMA в генезе сосудистых нарушений.

Уровень ADMA при сердечно-сосудистых заболеваниях

Повышенный уровень ADMA был обнаружен при самых различных сердечно-сосудистых заболеваниях, включая ишемическую болезнь сердца (ИБС) (табл. 1). В настоящее время ИБС является ведущей причиной смертности в промышленно развитых странах. В соответствии с данными последних исследований, повышенный уровень ADMA в плазме наблюдался в сочетании с такими факторами риска ИБС, как гиперхолестеринемия [41], гипертензия [42–43], сахарный диабет тип 2 и инсулинорезистентность [44–45], гипертриглицеридемия [46], гипергомоцистеинемия [47, 48], хроническая почечная недостаточность [43, 49] (табл. 1).

Таблица 1
КЛИНИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ПОВЫШЕНИЕМ УРОВНЯ ADMA В ПЛАЗМЕ КРОВИ

| Заболевание или фактор риска | Ссылка |
|-------------------------------------|----------|
| Атеросклероз | [78] |
| Диабет тип 2 | [44] |
| Эссенциальная гипертензия | [42] |
| Сердечная недостаточность | [79] |
| Инсульт | [80] |
| Гиперхолестеринемия | [41] |
| Периферическая артериальная болезнь | [81] |
| Преэклампсия | [82] |
| Гипергомоцистеинемия | [83; 84] |
| Почечная недостаточность | [1] |
| Легочная гипертензия | [85] |
| Тромботическая микроангиопатия | [86] |

Увеличение концентрации ADMA в плазме крови было выявлено у пациентов с инфарктом миокарда в сравнении с контрольной группой [47]; несколько клинических исследований выявили прямую зависимость смертности после перенесенного инфаркта миокарда от концентрации ADMA в плазме крови независимо от других традиционных факторов риска [49–54]. В одном из проспективных исследований было обнаружено, что уровень ADMA в плазме крови был повышен у пациентов с ИБС по сравнению со здоровыми лицами, причем нестабильная стенокардия сопровождалась значительно более выраженным повышением уровня ADMA, чем стабильная стенокардия [55]. The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study, крупное проспективное исследование со средним периодом наблюдения 5,5 лет документировало, что концентрация ADMA в плазме крови связана со смертностью от сердечно-сосудистых и других причин у пациентов со стабильной и нестабильной стенокардией независимо от известных факторов риска [56]. В другом исследовании с периодом наблюдения 24 года Leong и соавт. обнаружили ассоциацию увеличенного уровня ADMA в крови с

повышением частоты инфаркта миокарда и инсульта у женщин [57].

Вае и соавт. представили данные о том, что уровень ADMA в плазме крови значительно понижается у пациентов с острым коронарным синдромом, получавших стандартную терапию в течение двух недель [58]. Аналогичным образом снижение концентрации ADMA наблюдалось у пациентов с ИБС после терапии аспирином, бета-блокаторами, блокаторами кальциевых каналов и ингибиторами АПФ [59]. После проведения процедуры чрескожной баллонной ангиопластики также отмечалось существенное снижение концентрации ADMA [55]. Указанные данные показывают, что медикаментозная терапия ИБС, а также реваскуляризация миокарда приводят к снижению концентрации ADMA в плазме крови и одновременно улучшению клинических показателей. При этом остается неясным, имеется ли прямая взаимосвязь между уровнем ADMA и клиническими эффектами проводимой терапии или ADMA является всего лишь биомаркером, отражающим улучшение клинического состояния и не играющим причинной роли.

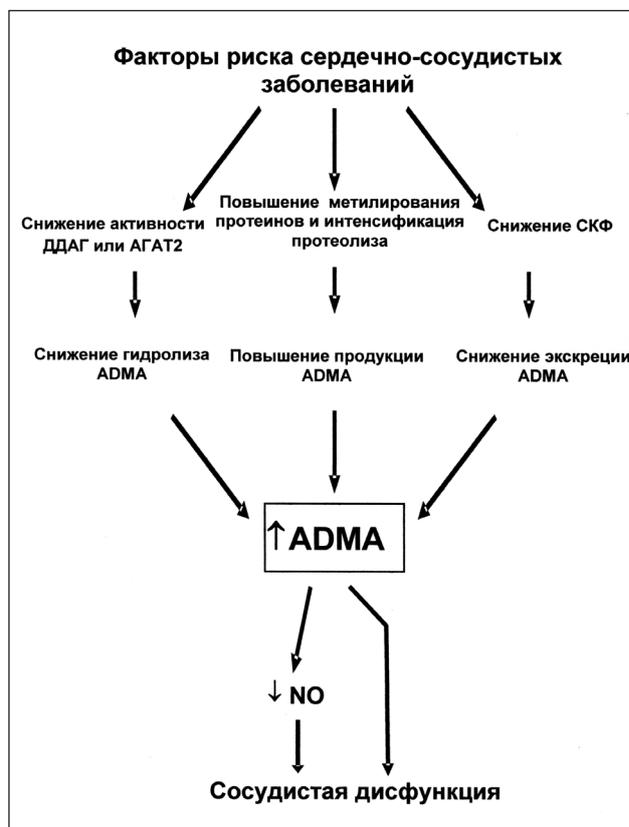
Механизмы увеличения уровня ADMA при сердечно-сосудистых заболеваниях

Рассматривается несколько возможных механизмов повышения уровня ADMA в плазме крови у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Некоторые экспериментальные данные говорят о том, что как снижение активности ДДАГ, так и нарушенная функция почек способствуют увеличению концентрации ADMA в крови (рис. 3). Так, например, повышенная концентрация ADMA документирована при сниженной активности ДДАГ в условиях гипергомоцистеинемии [60–61] и при нефропатиях, ассоциированных со снижением скорости клубочковой фильтрации [62]. Другие возможные механизмы повышения концентрации ADMA включают снижение активности АГАТ-2 и увеличение образования ADMA вследствие усиления метилирования белков или интенсификации процессов протеолиза. Участие последнего механизма подтверждается исследованиями Böger и соавт., которые показали, что окисленные липопротеины низкой плотности повышают уровень активности ПАМТ в эндотелиальных клетках [63]. Можно предполагать, что усиление протеолиза также может способствовать подъему уровня ADMA, особенно при заболеваниях, ассоциированных с увеличенным катаболизмом белков, например, при сепсисе, лейкозах, гемолитической анемии и ожоговой болезни.

Является ли ADMA этиологическим фактором сердечно-сосудистых заболеваний?

В ряде эпидемиологических исследований показана прямая зависимость между уровнем ADMA и возникновением ряда сердечно-сосудистых заболеваний, но существование данной зависимости еще не доказывает этиологическую роль ADMA в возникновении этих заболеваний. Вполне вероятно, что повышение уровня ADMA скорее представляет собой следствие, чем причину сердечно-сосудистых заболеваний. Основной возможностью тестировать гипотезу, что ADMA — причинный фактор, является целенаправленное изменение

Рисунок 3. Потенциальный механизм повышения концентрации ADMA, ведущий к развитию сердечно-сосудистых заболеваний



Примечания: Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний могут вызывать подъем уровня ADMA посредством трех механизмов: 1) снижение активности ДДАГ или АГАТ-2, что приводит к снижению гидролиза ADMA; 2) повышение метилирования аргининовых остатков, входящих в состав белков, и интенсификация протеолиза метилированных белков, что приводит к увеличению продукции ADMA; 3) снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), что приводит к снижению экскреции ADMA. Увеличение концентрации ADMA может вызывать сосудистую дисфункцию через NO-зависимые и NO-независимые механизмы.

(увеличение или снижение) концентрации ADMA с последующим анализом его влияния на течение и прогноз заболевания. В настоящее время имеются экспериментальные данные, показывающие, что повышение концентрации ADMA в плазме усиливает ишемическое-реперфузионное повреждение миокарда. Так, Li и соавт. обнаружили, что инфузия экзогенного ADMA увеличивает повреждение миокарда после ишемии-реперфузии на изолированном сердце крысы [64]. Сходный феномен наблюдался на той же модели при добавлении ингибитора NOS метилового эфира L-N^G-нитроаргина (L-NAME) [65].

На модели ишемии-реперфузии миокарда у мышей *in vivo* Stühlinger и соавт. обнаружили, что концентрация ADMA в миокарде резко повышается после ишемии и реперфузии миокарда [66]. Повышение тканевого уровня ADMA сочеталось со снижением активности ДДАГ в сердце. Кроме того, у мышей, трансгенных по ДДАГ1, наблюдался значительно меньший размер инфаркта и уровень ADMA, чем у животных «дикого типа».

Таким образом, все больше экспериментальных данных свидетельствуют о том, что гиперэкспрессия ферментов, разрушающих ADMA, приводит к понижению уровня ADMA в плазме крови и предотвращению сосудистой дисфункции, однако требуется больше данных для того, чтобы определить терапевтическую и прогностическую эффективность снижения уровня ADMA в клинической практике.

Взаимодействие между ADMA и лекарственными препаратами, используемыми в лечении сердечно-сосудистых заболеваний

Существует несколько классов сердечно-сосудистых препаратов, способных усиливать образование оксида азота и оптимизировать функцию эндотелия у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Снижение уровня ADMA в плазме крови наблюдалось при применении ингибиторов АПФ [67–68], блокаторов ангиотензиновых рецепторов [67] и некоторых пероральных сахароснижающих препаратов [45, 69]. Несмотря на значимое снижение уровня ADMA в плазме крови (30%), достаточное для воздействия на сосудистую функцию, точный механизм влияния этих препаратов на уровень ADMA остается неисследованным [70]. Также неясно, в какой степени снижение концентрации ADMA приводит к улучшению эндотелиальной функции, наблюдаемой при назначении указанных групп препаратов.

Не ясно взаимодействие между ADMA и статинами. Хотя большинство исследований не показали эффектов статинов на уровень ADMA в крови, несмотря на значительное улучшение эндотелиальной функции [71–73], имеются данные, что ADMA может изменять сосудистый ответ на статины. Было показано, что правастатин и симвастатин улучшают параметры сосудистого тонуса у пациентов с низким уровнем ADMA, в то время как пациенты с высоким уровнем ADMA являются более резистентными к воздействию статинов [74–75]. Необходимо проведение дополнительных исследований, посвященных взаимодействию ADMA и лекарственных препаратов, а также влиянию уровня ADMA на эффективность терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Перспективы дальнейших исследований

ADMA — новый фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциированный со спектром клинических ситуаций, характеризующихся нарушением продукции оксида азота. Несмотря на клинические и экспериментальные доказательства взаимосвязи увеличения уровня ADMA в плазме крови с эндотелиальной дисфункцией и риском развития сердечно-сосудистых осложнений, причинная роль ADMA в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний все еще не доказана. Для того чтобы ответить на вопрос, является ли ADMA маркером сердечно-сосудистых заболеваний или их этиологическим фактором, требуется всесторонний биохимический, генетический и фармакологический подход.

В последние годы было получено большое количество данных относительно роли DDAH в метаболизме ADMA. Стало известно, что почки являются основным местом метаболизма и выведения ADMA. Хорошо известно, что хронические нефропатии сопровождаются повышенным риском развития сердечно-сосудистых

осложнений, важную роль в развитии которых может играть подъем уровня ADMA. Не вызывает сомнений, что должно быть выполнено больше работ, проливающих свет на значение АГАТ-2-зависимого гидролиза ADMA, который происходит только в почках. Большинство работ было сконцентрировано только на ADMA, мало внимания уделялось NMMA и SDMA. Подобно ADMA, NMMA может функционировать как эндогенный ингибитор NOS. В отличие от них, SDMA не является ингибитором NOS, однако может косвенно снижать продукцию оксида азота посредством конкурентного взаимодействия с клеточным L-аргинином. Поэтому требуется больше исследований для того, чтобы определить патофизиологическую роль NMMA и SDMA в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, факторы, регулирующие продукцию ADMA и его аналогов, а также экспрессию и функционирование ПАМТ и катаболизм метилированных протеинов.

Относительный вклад ADMA в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний может быть оценен в комбинированных экспериментально-клинических исследованиях посредством определения эффекта терапии, направленной на снижение уровня ADMA, и оценки результатов данной терапии на течение и прогноз заболевания. Разработан ряд подходов, позволяющих снизить уровень ADMA в эксперименте, однако механизмы заболевания у людей могут существенно отличаться от таковых у животных. Этиологическая роль ADMA в сердечно-сосудистых заболеваниях может быть убедительно доказана после разработки специфической терапии, направленной на снижение уровня ADMA. По этой причине разработка препаратов, снижающих уровень ADMA, является в настоящее время одной из наиболее приоритетных задач. Многообещающим подходом является усиление активности DDAH1 или DDAH2 [70, 76]. В то же время известно, что гиперэкспрессия DDAH может стимулировать ангиогенез и опухолевый рост, что требует особенно тщательного анализа безопасности данного подхода [77]. Фармакологическое ингибирование ПАМТ представляет собой другую возможность разработки препаратов, снижающих уровень ADMA. При выяснении патогенетических механизмов заболеваний, так или иначе связанных с изменениями метаболизма ADMA, эти и другие стратегии могут привести к появлению новых диагностических и терапевтических подходов, которые помогут бороться с сердечно-сосудистыми заболеваниями, которые сохраняют лидирующую позицию среди причин смертности в большинстве стран мира.

Литература

1. Vallance P., Leone A., Calver A., Collier J., and Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992;339:572–575.
2. Boger R.H., Cooke J.P., and Vallance P. ADMA: an emerging cardiovascular risk factor. *Vasc Med* 2005;10 Suppl 1:S1–S2.
3. Creager M.A., Gallagher S.J., Girerd X.J., Coleman S.M., Dzau V.J., and Cooke J.P. L-Arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992;90:1248–1253.
4. Boger R.H., Bode-Boger S.M., Mugge A., Kienke S., Brandes R., Dwenger A., and Frolich J.C. Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis* 1995;117:273–284.

5. Boger R.H. 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;134:2842S–2847S.
6. Pollock J.S., Forstermann U., Mitchell J.A., Warner T.D., Schmidt H.H., Nakane M., and Murad F. Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 1991;88:10480–10484.
7. Leiper J., and Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999;43:542–548.
8. Rees D.D., Palmer R.M., Schulz R., Hodson H.F., and Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1990;101:746–752.
9. Faraci F.M., Brian J.E.J., and Heistad D.D. Response of cerebral blood vessels to an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Am J Physiol* 1995;269:H1522–H1527.
10. Ueno S., Morino H., Sano A., and Kakimoto Y. Purification and characterization of D-3-aminoisobutyrate-pyruvate aminotransferase from rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1990;1033:169–175.
11. Nonaka S., Tsunoda M., Imai K., and Funatsu T. High-performance liquid chromatographic assay of N(G)-monomethyl-L-arginine, N(G),N(G)-dimethyl-L-arginine, and N(G),N(G)-dimethyl-L-arginine using 4-fluoro-7-nitro-2, 1,3-benzoxadiazole as a fluorescent reagent. *J Chromatogr* 2005;A 1066:41–45.
12. Ueno S., Sano A., Kotani K., Kondoh K., and Kakimoto Y. Distribution of free methylarginines in rat tissues and in the bovine brain. *J Neurochem* 1992;59:2012–2016.
13. Anthony S., Leiper J., and Vallance P. Endogenous production of nitric oxide synthase inhibitors. *Vasc Med* 2005;10 Suppl 1:S3–S9.
14. Ghosh S.K., Paik W.K., and 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;263:19024–19033.
15. Rawal N., Rajpurohit R., Paik W.K., and Kim S. Purification and characterization of S-adenosylmethionine-protein-arginine N-methyltransferase from rat liver. *Biochem J* 1994;300:483–489.
16. Tang J., Frankel A., Cook R.J., Kim S., Paik W.K., Williams K.R., Clarke S., and Herschman H.R. PRMT1 is the predominant type I protein arginine methyltransferase in mammalian cells. *J Biol Chem* 2000;275:7723–7730.
17. Closs E.I., Basha F.Z., Habermeyer A., and Forstermann U. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y+ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide* 1997;1:65–73.
18. Ogawa T., Kimoto M., Watanabe H., and Sasaoka K. Metabolism of NG,NG- and NG,N'G-dimethylarginine in rats. *Arch Biochem Biophys* 1987;252:526–537.
19. Ogawa T., Kimoto M., and Sasaoka K. Purification and properties of a new enzyme, NG,NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase, from rat kidney. *J Biol Chem* 1989;264:10205–10209.
20. Ogawa T., Kimoto M., and Sasaoka K. Dimethylarginine: pyruvate aminotransferase in rats. Purification, properties, and identity with alanine:glyoxylate aminotransferase 2. *J Biol Chem* 1990;265:20938–20945.
21. Sasaoka K., Ogawa T., and Kimoto M. N-Acetyl conjugates of basic amino acids newly identified in rat urine. *Arch Biochem Biophys* 1982;219:454–458.
22. Leiper J.M., Santa M., Chubb A., MacAllister R.J., Charles I.G., Whitley G.S., and Vallance P. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J* 1999;343 Pt 1:209–214.
23. Tran C.T., Fox M.F., Vallance P., and Leiper J.M. Chromosomal localization, gene structure, and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. *Genomics* 2000;68:101–105.
24. Wang D., Gill P.S., Chabrashvili T., Onozato M.L., Raggio J., Mendonca M., et al. Isoform-specific regulation by N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase of rat serum asymmetric dimethylarginine and vascular endothelium-derived relaxing factor/NO. *Circ Res* 2007;101:627–635.
25. MacAllister R.J., Parry H., Kimoto M., Ogawa T., Russell R.J., Hodson H., et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996;119:1533–1540.
26. Kontani Y., Kaneko M., Kikugawa M., Fujimoto S., and Tamaki N. Identity of D-3-aminoisobutyrate-pyruvate aminotransferase with alanine-glyoxylate aminotransferase 2. *Biochim Biophys Acta* 1993;1156:161–166.
27. Lee I.S., Nishikimi M., Inoue M., Muragaki Y., and Ooshima A. Specific expression of alanine-glyoxylate aminotransferase 2 in the epithelial cells of Henle's loop. *Nephron* 1999;83:184–185.
28. Teerlink T. ADMA metabolism and clearance. *Vasc Med* 2005;10 Suppl 1:S73–S81.
29. Jacobi J., and Tsao P.S. Asymmetrical dimethylarginine in renal disease: limits of variation or variation limits? A systematic review. *Am J Nephrol* 2008;28:224–237.
30. Masuda H., Goto M., Tamaoki S., and Azuma H. Accelerated intimal hyperplasia and increased endogenous inhibitors for NO synthesis in rabbits with alloxan-induced hyperglycaemia. *Br J Pharmacol* 1999;126:211–218.
31. Dayoub H., Achan V., Adimoolam S., Jacobi J., Stuehlinger M. C., Wang B.Y., et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation* 2003;108:3042–3047.
32. Dayoub H., Rodionov R., Lynch C., Cooke J.P., Arning E., Bottiglieri T., et al. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase inhibits asymmetric dimethylarginine-induced endothelial dysfunction in the cerebral circulation. *Stroke* 2008;39:180–184.
33. Hasegawa K., Wakino S., Tatematsu S., Yoshioka K., Homma K., Sugano N., et al. Role of asymmetric dimethylarginine in vascular injury in transgenic mice overexpressing dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2. *Circ Res* 2007;101:e2–10.
34. Tokuo H., Yunoue S., Feng L., Kimoto M., Tsuji H., Ono T., et al. Phosphorylation of neurofibromin by cAMP-dependent protein kinase is regulated via a cellular association of N(G),N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *FEBS Lett* 2001;494:48–53.
35. Li F., Munchhof A.M., White H.A., Mead L.E., Krier T. R., Fenoglio A., et al. Neurofibromin is a novel regulator of RAS-induced signals in primary vascular smooth muscle cells. *Hum Mol Genet* 2006;15:1921–1930.
36. Hasegawa K., Wakino S., Tanaka T., Kimoto M., Tatematsu S., Kanda T., et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 increases vascular endothelial growth factor expression through Sp1 transcription factor in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1488–1494.
37. Kielstein J.T., Impraim B., Simmel S., Bode-Boger S.M., Tsikas D., Frolich J.C., et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004;109:172–177.
38. Kielstein J.T., Donnerstag F., Gasper S., Menne J., Kielstein A., Martens-Lobenhoffer J., et al. ADMA increases arterial stiffness and decreases cerebral blood flow in humans. *Stroke* 2006;37:2024–2029.
39. Suda O., Tsutsui M., Morishita T., Tasaki H., Ueno S., Nakata S., et al. Asymmetric dimethylarginine produces vascular lesions in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice: involvement of renin-angiotensin system and oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1682–1688.

40. Leiper J., Nandi M., Torondel B., Murray-Rust J., Malaki M., O'Hara B., et al. Disruption of methylarginine metabolism impairs vascular homeostasis. *Nat Med* 2007;13:198–203.
41. Böger R.H., Bode-Böger S.M., Szuba A., Tsao P.S., Chan J.R., Tangphao O., et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): A novel risk factor for endothelial dysfunction – its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;98:1842–1847.
42. Surdacki A., Nowicki M., Sandmann J., Tsikas D., Boeger R.H., Bode-Boeger S.M., et al. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;33:652–658.
43. Fleck C., Schweitzer F., Karge E., Busch M., and Stein G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clin Chim Acta* 2003;336:1–12.
44. Abbasi F., Asagmi T., Cooke J.P., Lamendola C., McLaughlin T., Reaven G.M., et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001;88:1201–1203.
45. Stuhlinger M.C., Abbasi F., Chu J.W., Lamendola C., McLaughlin T.L., Cooke J.P., et al. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 2002;287:1420–1426.
46. Lundman P., Eriksson M.J., Stuhlinger M., Cooke J.P., Hamsten A., and Tornvall P. Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:111–116.
47. Korandji C., Zeller M., Guillard J.C., Vergely C., Sicard P., Duvillard L., et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and hyperhomocysteinemia in patients with acute myocardial infarction. *Clin Biochem* 2007;40:66–72.
48. Rodionov R.N., and Lentz S.R. The homocysteine paradox. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:1031–1033.
49. Zoccali C., Bode-Boger S., Mallamaci F., Benedetto F., Tripepi G., Malatino L., et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001;358:2113–2117.
50. Zeller M., Korandji C., Guillard J.C., Sicard P., Vergely C., Lorgis L., et al. Impact of asymmetric dimethylarginine on mortality after acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:954–960.
51. Schnabel R., Blankenberg S., Lubos E., Lackner K.J., Rupprecht H.J., Espinola-Klein C., et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ Res* 2005;97:e53–e59.
52. Duckelmann C., Mittermayer F., Haider D.G., Altenberger J., Eichinger J., and Wolzt M. Asymmetric dimethylarginine enhances cardiovascular risk prediction in patients with chronic heart failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2037–2042.
53. Krzyzanowska K., Mittermayer F., Wolzt M., and Schernthaner G. Asymmetric dimethylarginine predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007;30:1834–1839.
54. Schulze F., Lenzen H., Hanefeld C., Bartling A., Osterziel K.J., Goudeva L., et al. Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: results from the multicenter Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study. *Am Heart J* 2006;152:493–498.
55. Kreml T.K., Maas R., Sydow K., Meinertz T., Boger R.H., and Kahler J. Elevation of asymmetric dimethylarginine in patients with unstable angina and recurrent cardiovascular events. *Eur Heart J* 2005;26:1846–1851.
56. Meinitzer A., Seelhorst U., Wellnitz B., Halwachs-Baummann G., Boehm B.O., Winkelmann B.R., et al. Asymmetrical dimethylarginine independently predicts total and cardiovascular mortality in individuals with angiographic coronary artery disease (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study). *Clin Chem* 2007;53:273–283.
57. Leong T., Zylberstein D., Graham I., Lissner L., Ward D., Fogarty J., et al. Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women: 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:961–967.
58. Bae S.W., Stuhlinger M.C., Yoo H.S., Yu K.H., Park H.K., Choi B.Y., et al. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations in newly diagnosed patients with acute myocardial infarction or unstable angina pectoris during two weeks of medical treatment. *Am J Cardiol* 2005;95:729–733.
59. Yada T., Kaji S., Akasaka T., Mochizuki S., Ogasawara Y., Tanemoto K., et al. Changes of asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, tetrahydrobiopterin, and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction by medical treatments. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007;37:269–276.
60. Stuhlinger M.C., Tsao P.S., Her J.H., Kimoto M., Balint R.F., and Cooke J.P. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001;104:2569–2575.
61. Dayal S., Rodionov R.N., Arning E., Bottiglieri T., Kimoto M., Murry D.J., et al. Tissue-specific Downregulation of Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase in Hyperhomocysteinemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295(2):H816–25.
62. Leiper J.M., and Vallance P. The synthesis and metabolism of asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Eur J Clin Pharmacol* 2006;62 Suppl 13:33–38.
63. Boger R.H., Sydow K., Borlak J., Thum T., Lenzen H., Schubert B., et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 2000;87:99–105.
64. Li D., Xia K., Li N.S., Luo D., Wang S., Jiang D.J., et al. Reduction of asymmetric dimethylarginine involved in the cardioprotective effect of losartan in spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2007;85:783–789.
65. Di N.P., Taccardi A.A., Grilli A., De Lutiis M.A., Barsotti A., Felaco M., and De C.R. Chronic treatment with rosuvastatin modulates nitric oxide synthase expression and reduces ischemia-reperfusion injury in rat hearts. *Cardiovasc Res* 2005;66:462–471.
66. Stuhlinger M.C., Conci E., Haubner B.J., Stocker E.M., Schwaighofer J., Cooke J.P., et al. Asymmetric dimethyl L-arginine (ADMA) is a critical regulator of myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2007;75:417–425.
67. Delles C., Schneider M.P., John S., Gekle M., and Schmieler R.E. 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* 2002;15:590–593.
68. Chen J.W., Hsu N.W., Wu T.C., Lin S.J., and Chang M.S. Long-term angiotensin-converting enzyme inhibition reduces plasma asymmetric dimethylarginine and improves endothelial nitric oxide bioavailability and coronary microvascular function in patients with syndrome X. *Am J Cardiol* 2002;90:974–982.
69. Asagami T., Abbasi F., Stuhlinger M., Lamendola C., McLaughlin T., Cooke J.P., et al. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002;51:843–846.
70. Maas R. Pharmacotherapies and their influence on asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Vasc Med* 2005;10 Suppl 1:S49–S57.
71. Janatuinen T., Laaksonen R., Vesalainen R., Raitakari O., Lehtimäki T., Nuutila P., and Knuuti J. Effect of lipid-lowering

therapy with pravastatin on myocardial blood flow in young mildly hypercholesterolemic adults. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38:561–568.

72. Paiva H., Laakso J., Lehtimäki T., Isomustajarvi M., Ruokonen I., and Laaksonen R. Effect of high-dose statin treatment on plasma concentrations of endogenous nitric oxide synthase inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003;41:219–222.

73. Panichi V., Mantuano E., Paoletti S., Santi S., Manca R.G., Cutrupi S., et al. Effect of simvastatin on plasma asymmetric dimethylarginine concentration in patients with chronic kidney disease. *J Nephrol* 2008;21:38–44.

74. Janatuinen T., Laakso J., Laaksonen R., Vesalainen R., Nuutila P., Lehtimäki T., et al. Plasma asymmetric dimethylarginine modifies the effect of pravastatin on myocardial blood flow in young adults. *Vasc Med* 2003;8:185–189.

75. Boger G.I., Rudolph T.K., Maas R., Schwedhelm E., Dumbadze E., Bierend A., et al. Asymmetric dimethylarginine determines the improvement of endothelium-dependent vasodilation by simvastatin: Effect of combination with oral L-arginine. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2274–2282.

76. Singh J.P. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase: a new therapeutic target for the modulation of nitric oxide and angiogenesis. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 2007;8:736–741.

77. Kostourou V., Robinson S.P., Cartwright J.E., and Whitley G.S. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase I enhances tumour growth and angiogenesis. *Br J Cancer* 2002;87:673–680.

78. Miyazaki H., Matsuoka H., Cooke J.P., Usui M., Ueda S., Okuda S., and Imaizumi T. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141–1146.

79. Usui M., Matsuoka H., Miyazaki H., Ueda S., Okuda S., and Imaizumi T. Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci* 1998;62:2425–2430.

80. Yoo J.H., and Lee S.C. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 2001;158:425–430.

81. Böger R.H., Bode-Böger S.M., Thiele W., Junker W., Alexander K., and Frolich J.C. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease [see comments]. *Circulation* 1997;95:2068–2074.

82. Pettersson A., Hedner T., and Milsom I. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998;77:808–813.

83. Böger R.H., Bode-Böger S.M., Sydow K., Heistad D.D., and Lentz S.R. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e)inemia or hypercholesterolemia. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2000;20:1557–1564.

84. Böger R.H., Lentz S.R., Bode-Böger S.M., Knapp H.R., and Haynes W.G. Elevation of asymmetric dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Clin Sci* 2001;100:161–167.

85. Gorenflo M., Zheng C., Werle E., Fiehn W., and Ulmer H.E. Plasma levels of asymmetrical dimethyl-L-arginine in patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;37:489–492.

86. Herlitz H., Petersson A., Sigstrom L., Wennmalm A., and Westberg G. The arginine-nitric oxide pathway in thrombotic microangiopathy. *Scand J Urol Nephrol* 1997;31:477–479.