



# Koroner Arter Hastalarında Asimetrik Dimetilarjinin ve Oksidatif Stresin İncelenmesi

## Investigation of Asymmetric Dimethylarginine and Oxidative Stress in Coronary Artery Disease Patients

● Kamil Tuzgöl<sup>1</sup>, ● Aysel Arıcıoğlu<sup>2</sup>, ● Aycan Fahri Erkan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>KTO Karatay Üniversitesi İktisadi, İdari ve Sosyal Bilimler Fakültesi, Psikoloji Bölümü, Konya, Türkiye

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

### Öz

**Amaç:** Aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH), dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur. Aterosklerozda endotelial disfonksiyon aterosklerozun habercisi bir fenomen olarak kabul edilir. Bu enflamatuvar süreçte birçok mediyatör birbirleri ile etkileşilerek vasküler yatakta aterosklerozun oluşumunda etkilerde bulunmaktadır. Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) vasküler hasara nitrik oksit (NO) miktarlarını azaltarak neden oluyor gibi görünmektedir. Okside-düşük dansiteli lipoprotein (LDL), hem ADMA sentezini sağlayan protein arjinin metil transferaz enzimini indüklemekte; hem de ADMA yıkımını gerçekleştiren dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz enzimini inhibe ederek ADMA düzeylerini artırmakta, böylelikle indirekt yoldan NO sentezini azaltmaktadır. Okside LDL (Ox-LDL) lipid peroksidasyonu süreci ile birlikte oluşmakta olup biyolojik materyalde malondialdehid (MDA) ölçülmesi lipid peroksidasyon seviyelerinin belirteci olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda bahsedilen enzimlerin düzeyleri ile KAH arasındaki ilişki incelenmiştir.

**Yöntem ve Gereçler:** Çalışmamızda ateroskleroz zemininde oluşan koroner arter hastalarında, minimal KAH ve normal koroner arterler saptanan kişilerde ADMA ve simetrik dimetilarjinin (SDMA), yüksek performans likit kromatografisi (HPLC) yöntemi (Eureka kit); Ox-LDL, ELISA yöntemi (Immudiagnostik kit); ve MDA düzeyleri ise HPLC (Immuchrom kit)-spektrofotometrik yöntemler ile ölçüldü. Hasta popülasyonu kardiyoloji polikliniğine göğüs ağrısı şikayetiyle başvuran ve non-invaziv stres testi ile iskemi bulgusu saptanan hastalar arasından seçilmiştir.

**Bulgular:** Total-kolesterol ve LDL değerlerinin ciddi KAH grubunda düşük saptanması statin kullanımının etkisine bağlanmıştır. Ciddi KAH grubunda kullanılan statin türü ilaçların lipid düzeylerini düşürdükleri gibi, ADMA düzeylerini de düşürmeleri olasıdır. Düşük ADMA düzeylerinin, ADMA'nın vasküler yatağa yapacağı olumsuz etkilerin azalmasında etkili olacağını düşünmekteyiz. Bu hipotezin daha büyük ölçekli çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

**Sonuç:** Çalışmanın istatistiksel sonuçlarına göre, ADMA, SDMA, Ox-LDL ve MDA düzeyleri açısından; normal koroner arter saptanan kontrol grubu ile minimal ve ciddi KAH saptanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede bir farklılık görülmedi ( $p>0,05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Asimetrik dimetilarjinin, oksidatif stres, koroner arter hastalığı, okside LDL, malondialdehid

### Abstract

**Objective:** Atherosclerotic coronary artery disease is a major health problem worldwide. Endothelial dysfunction in atherosclerosis is considered a precursor phenomenon of atherosclerosis. In this inflammatory process, many mediators interact with each other and influence the formation of atherosclerosis in the vascular bed. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) appears to cause vascular damage by reducing nitric oxide (NO) amounts. Oxidized-low-density lipoprotein (LDL) induces the protein arginine methyl transferase enzyme, which enables ADMA synthesis; it also increases ADMA levels by inhibiting the enzyme dimethylarginine dimethylaminohydrolase, which breaks down ADMA, thus indirectly reducing NO synthesis. Ox-LDL is formed through the process of lipid peroxidation, and measurement of malondialdehyde (MDA) in



**Yazar Adresi/Address for Correspondence:** Kamil Tuzgöl, KTO Karatay Üniversitesi İktisadi, İdari ve Sosyal Bilimler Fakültesi, Psikoloji Bölümü, Konya, Türkiye

**Tel/Phone:** +90 505 376 06 64 **E-Posta/E-mail:** drkamiltuzgol@gmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0003-4964-0861

**Geliş Tarihi/Received:** 20.06.2024 **Kabul Tarihi/Accepted:** 31.08.2024



Copyright© 2024 Yazar. Kardiyovasküler Akademi Derneği adına Galenos Yayınevi tarafından yayımlanmıştır.

Creative Commons Atıf-GayriTicari-Türetilemez 4.0 (CC BY-NC-ND) Uluslararası Lisansı ile lisanslanmış, açık erişimli bir makedir.

biological material is used as an indicator of lipid peroxide levels. In our study, the relationship between the levels of the mentioned enzymes and coronary artery disease was examined.

**Material and Methods:** In our study, ADMA and symmetric dimethylarginine (SDMA), high-pressure liquid chromatography (HPLC) method (Eureka kit); Ox-LDL, ELISA method (Immunodiagnostic kit); and MDA levels were measured by HPLC (Immuchrom kit)-spectrophotometric methods. The relationship of these parameters both between the groups and with each other was evaluated. The patient population was selected from patients who presented to the cardiology outpatient clinic with chest pain and were found to have evidence of ischemia on a non-invasive stress test.

**Results:** The low total cholesterol and LDL values in the severe coronary artery disease (CAD) group were attributed to the effect of statin use. It is possible that statin-type drugs used in severe CAD groups reduce lipid levels as well as ADMA levels. We think that low ADMA levels will be effective in reducing the negative effects of ADMA on the vascular bed. This hypothesis needs to be supported by larger-scale studies.

**Conclusion:** According to the statistical results of the study, in terms of ADMA, SDMA, Ox-LDL and MDA levels; there was no statistically significant difference between the control group with normal coronary arteries and the groups with minimal and severe coronary artery disease ( $p>0.05$ ).

**Keywords:** Asymmetric dimethylarginine, oxidative stress, coronary artery disease, oxidized LDL, malondialdehyde

## GİRİŞ

Aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH), sanayileşmiş ülkelerde morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenidir ve endotelial disfonksiyon aterosklerozun habercisi bir fenomen olarak kabul edilir (1). Ateroskleroz, endotel disfonksiyonu, vasküler enflamasyon ve lipid kolesterol birikmesi ile karakterize arterleri tutan bir hastalıktır (2). Aterosklerotik KAH bir veya daha fazla koroner arteri tutabilir. Her yıl bu hastalık nedeniyle üç milyondan fazla erkek ve kadın hayatını kaybetmektedir (3). 1970'lerden günümüze kadar aterosklerozun oluşumu ve ilerlemesinin nasıl olduğunun anlaşılması giderek artmıştır. Risk faktörleri tarafından etkilenen vasküler endotel, kademeli olarak fizyolojik koruyucu fonksiyonunu kaybeder ve aterosklerozun ilerlemesine neden olur (4). Ateroskleroz oluşumunda etkili olan çeşitli moleküler mekanizmaların araştırılması sonucunda aterosklerotik plak oluşum sürecindeki asıl etkenlerin lipidlerin ve kolesterolün arter duvarında birikmesinden daha çok, kompleks mekanizmalarla meydana gelen bir enflamatuvar sürecin olayın zemininde yer aldığı bildirilmektedir (5,6). Endojen nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü asimetrik dimetilarginininin (ADMA) endotel disfonksiyonu ile ilişkisine ait kanıtlar bulunmaktadır (7). Artmış plazma ADMA konsantrasyonlarının hipertansiyon, hiperlipidemi, hiperhomosisteinemi, KAH, periferik arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, inme, pulmoner hipertansiyon ve son dönem böbrek hastalığı ile ilişkisi gösterilmiştir (8-16). Ayrıca, artmış ADMA konsantrasyonlarının kronik böbrek yetmezliği hastalarında (17) ve akut koroner sendromlarda (11) mortaliteyi belirlediği bildirilmiştir. ADMA vasküler hasara nitrik oksit (NO) miktarlarını azaltarak ve süper oksit düzeylerini artırarak neden oluyor gibi görünmektedir. ADMA'nın protein arjinin metil transferaz (PMRT) enzimi ile yapımı sağlanırken; dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi ile yıkımı yapılmaktadır. Aynı zamanda ADMA'nın kendisinde, L-arjininden

endotelial NOS aracılığı ile oluşan güçlü bir vazodilatatör olan NO sentezinde e-NOS'u (-) feed back etkisi ile etkilemekte ve dolayısı ile NO miktarında azalmaya neden olmaktadır. ADMA'nın yapısal bir izomeri olan simetrik dimetilarginin (SDMA) ise, Larginin ile rekabet etmesine rağmen biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülmektedir (6,18,19). Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) lipid peroksidasyon süreci ile oluşan okside LDL (Ox-LDL), hem ADMA sentezini sağlayan PMRT enzimini indüklemekte, hem de ADMA yıkımını gerçekleştiren DDAH enzimini inhibe ederek ADMA düzeylerini artırmakta, böylelikle indirekt yoldan NO sentezini azaltmaktadır (18-21). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehidin (MDA) de oksidatif stresin bir belirteci olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (22-24). Bu çalışmada, Ox-LDL, MDA, SDMA ve ADMA gibi parametrelerin, koroner anjiyografi sonrası KAH tanısını predikte etmedeki rolünü araştırdık.

## YÖNTEM VE GEREÇLER

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı ve Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı ile ortaklaşa yürütülen bu çalışmaya endikasyonu dahilinde koroner anjiyografisi yapılan ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan hastalar dahil edilmiştir. Hastalardan koroner anjiyografi olmadan 30 dakika önce alınan kan örnekleri, koroner anjiyografi sonuçlarına göre tasnif edilerek, kontrol grubu da dahil olmak üzere Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda çalışılmıştır. Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan bilimsel araştırma izini alınmıştır (karar no: 45, tarih: 19.01.2009). Çalışmaya alınan hastalar Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Polikliniği'ne, iskemik kalp hastalığını düşündüren semptomlarla başvuran ve yapılan klinik değerlendirmeye ve/veya non-invaziv test sonuçlarına göre bir kardiyoloji uzmanı tarafından

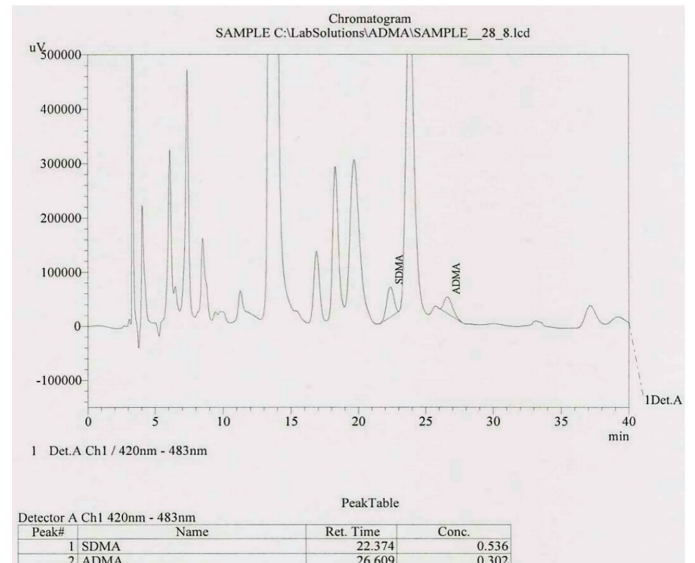
koroner anjiyografi endikasyonu konulan hastalardan seçilmiştir. Koroner anjiyografi işlemleri Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Koroner Anjiyografi ve Hemodinami Laboratuvarı'nda girişimsel kardiyoloji konusunda deneyimli kardiyoloji uzmanları tarafından yapılmıştır. Selektif koroner anjiyografi Judkins kateterleri ile femoral yaklaşımla uygulandı (General Electric, 30 kare/sn, 7-6 F diyagnostik kateter). Left anterior descending (LAD) ve sirkumfleks koroner arterleri, en az dört pozda ve sağ koroner arter en az iki pozda değerlendirildi. Koroner referans segment lezyon proksimali ve distalinden seçildi. Diyagnostik kateter kalibrasyonu ile çap ve lümen darlığı ölçüldü. Koroner lümen daralmaları, hastanın klinik durumunu bilmeyen bir kardiyolog tarafından değerlendirildi. Koroner anjiyografiler, KAH ciddiyetini değerlendiren Gensini skoru ile yorumlandı. Gensini tarafından tanımlanmış olan Gensini skorunda, anjiyografik stenoz derecesine göre; %0-25 arası darlık için 1 puan, %25-50 arası darlık için 2 puan, %50-75 arası darlık için 4 puan, %75-90 arası darlık için 8 puan, %90-99 arası darlık için 16 puan, %100 total lezyon için 32 puan verilir. Sol ana koroner arter 5, proksimal LAD 2,5; proksimal sirkumfleks arter 2,5 (sol dominansi olduğunda 3,5); LAD orta segment 1,5; sağ koroner arter, distal LAD, posterolateral arter, obtus marjinal arter 1; diğerleri 0,5 ile çarpılır. Gensini skorunda kullanılan lezyon yüzdesi ve çarpım faktörleri, daha sonra her bir ana koroner arter ve her bir segment için tanımlanmış olan katsayı ile çarpılır ve sonuçlar toplanır. Gensini skoru 1-20 arasında ise hafif koroner ateroskleroz, skor >20 ise ciddi koroner ateroskleroz olarak kabul edilir (25). Böbrek yetmezliği, dekompanse kalp yetmezliği, periferik damar hastalığı, serebrovasküler hastalık, ciddi kalp kapak hastalığı ve ailevi hiperlipidemi sendromu hikayesi olan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. Çalışmamızda, endikasyonu dahilinde koroner anjiyografisi yapılan bireylerden normal koroner arterleri olan 29 kişi, minimal KAH olan 32 kişi ve şiddetli KAH olan 33 kişi yer aldı. Hastalara çalışmaya alınmadan önce hasta onam formları verilerek, imzaları ve onamları alındı. On iki saatlik açlık sonrasında, hastalar koroner anjiyografi olmadan 30 dk önce alınan kanlar biyokimya tüpüne konuldu. Otuz dk içinde 3000 devir/dk'da biyokimya tüpleri santrifüj edildi. Serum kısmı otomatik pipetle alındı. Eppendorf tüplerine 2 cc serum konulup -80°C de donduruldu. ADMA ve SDMA'nın analizi yüksek performans likit kromatografisi (HPLC) yöntemiyle floresans dedektör aracılığıyla ölçüldü. Çalışmada, Eureka ADMA kiti (100 testlik) kullanıldı. ADMA kolonu takılı iken çalışma esnasında çıkan ADMA pikinin ardından hazırlanan yöntemeye uygun olarak SDMA piki de gözlenir. Referans aralıkları ADMA için 0,368 µmol/L den küçük, SDMA için 0,29-0,63 µmol/L'dir. MDA düzeyleri, HPLC-TBARS yöntemleriyle, ox-LDL ise ELISA yöntemiyle ölçülmüştür.

## İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler, Sosyal Bilimler için İstatistik Programı 15.0 paket programı (Chicago, IL, ABD) ile değerlendirilmiştir. Verilerin normallik testi sonucunda; gruplar arası farklılık incelenirken ikili gruplarda Mann-Whitney U testi, ikiden fazla gruplarda ise Bonferroni düzeltmeli Kruskal-Wallis H testi uygulanmıştır. Değişkenlerin birbiriyle olan bağımlılık durumları incelenirken ki-kare bağımsızlık analizi ve değişkenler arası ilişkiler incelenirken korelasyon katsayısından yararlanılmıştır. Gruplar arası farklılık incelenirken; anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup; p<0,05 olması durumunda gruplar arası anlamlı farklılığın olduğu, p>0,05 olması durumunda ise gruplar arası anlamlı farklılığın olmadığı belirtilmiştir.

## BULGULAR

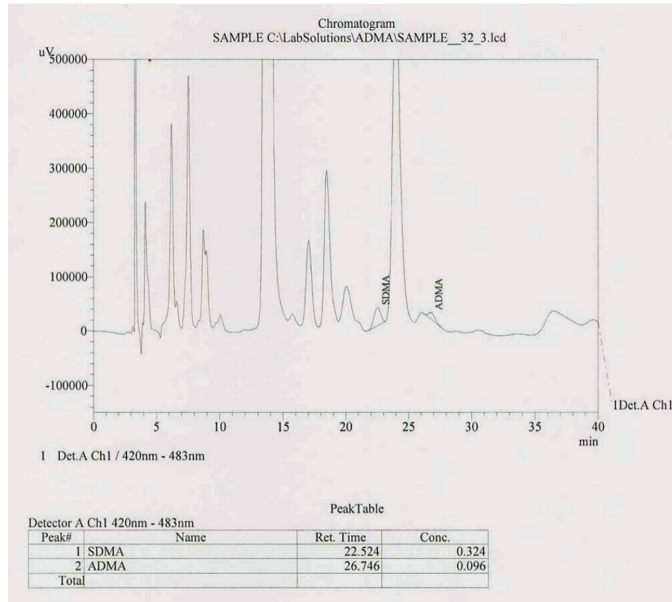
Çalışmamıza alınan toplam 94 kişiden, 29'u (%30,8) koroner arterleri normal saptanan bireylerden oluşurken, 32'si (%34,0) minimal KAH saptanan, 33'ü ise (%35,2) ciddi KAH saptanan kişilerden oluşmuştur. Bu çalışmada, koroner anjiyografi sonucunda hesaplanan Gensini skoruna göre, çalışma popülasyonu koroner arterleri normal saptanan bireyler, minimal KAH saptananlar ve ciddi KAH hastalığı olanlar şeklinde gruplara ayrılmıştır. Bu gruplarda ADMA, SDMA, Ox-LDL, MDA-HPLC ve MDA-spektrofotometre (SPK) düzeyleri çalışılmış ve koroner arterleri normal tespit edilenler kontrol grubu olarak kabul edilerek, minimal ve ciddi koroner arter hastalığı grupları gerek kontrol grubuna karşı, gerekse de kendi aralarında yukarıda sayılan biyokimyasal parametreler açısından karşılaştırılmıştır. Şekil 1' de koroner anjiyografi sonrası Gensini skoruna göre ciddi



Şekil 1. Ciddi KAH olan hastaya ait ADMA-SDMA kromatogramı  
ADMA: Asimetrik dimetilarginin, SDMA: Simetrik dimetilarginin

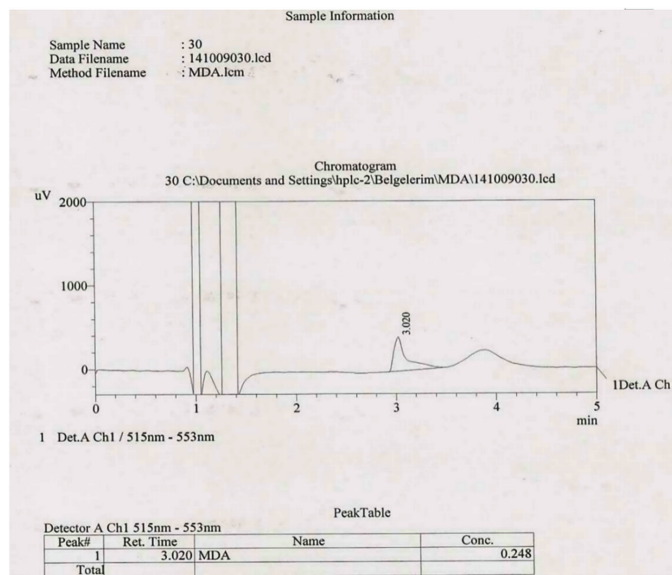
KAH saptanan bir hastanın ADMA ve SDMA sonuç kromotogramı gösterilmektedir. Şekil 2' de ise normal koroner arter saptanan bir bireyde, ADMA ve SDMA kromotogramı gösterilmektedir.

Non-kardiyak anjina saptanan bir bireyin MDA-HPLC ölçüm kromotogramı Şekil 3'te ve ciddi KAH saptanan hastalarda MDA-HPLC kromotogramı Şekil 4'te verilmiştir. SDMA, ADMA, MDA HPLC, MDA SPK VE Ox-LDL parametrelerinin Gensini skoruna göre değerlendirilmesi Tablo 1' de sunulmuştur.



Şekil 2. NKA saptanan kontrol grubundaki bir kişiye ait ADMA-SDMA kromotogramı

NKA: Normal koroner arter, ADMA: Asimetrik dimetilarginin, SDMA: Simetrik dimetilarginin



Şekil 3. NKA saptanan bir bireyin MDA-HPLC ölçüm kromotogramı

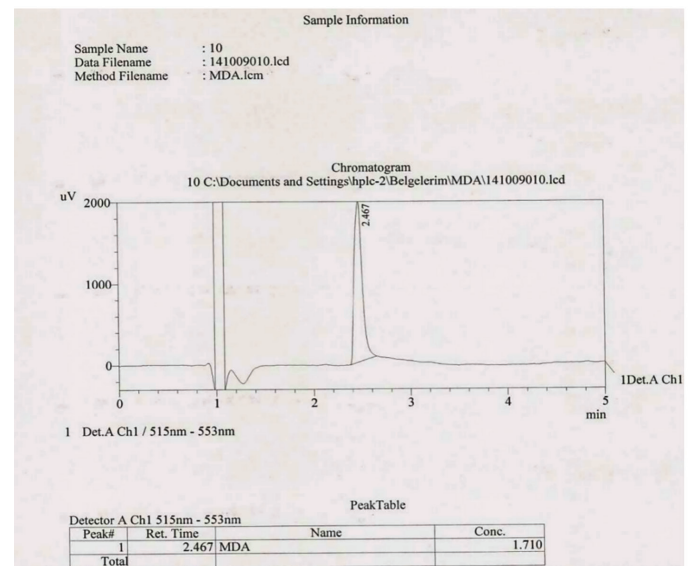
NKA: Normal koroner arter, MDA: Malondialdehid, HPLC: Yüksek performans likit kromatografisi

Hastalık grupları arasında SDMA, ADMA, MDA-HPLC, MDA-SPK ve Ox-LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemektedir ( $p>0,05$ ). Bu istatistiksel değerlendirme yapılırken oluşturulan, ciddi KAH olmayan grup; koroner anjiyografisinde normal koroner arter saptanan kişileri ve minimal koroner arter hastalarını kapsarken, ciddi KAH olan grup; ise Gensini skoruna göre ciddi koroner aterosklerozu (skor  $>20$ ) olan grubu ifade etmektedir. Gensini skorlamasına göre üç gruba ayrılan bir önceki değerlendirmede de olduğu gibi istatistiksel olarak benzer sonuçlar burada da gözlemlendi.

ADMA ölçüm değeri ile SDMA ( $r=0,191$ ,  $p=0,116$ ), MDA-SPK ( $r=-0,072$ ,  $p=0,488$ ) ve Ox-LDL ( $r=-0,033$ ,  $p=0,757$ ) ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir. ADMA ölçüm değerleri ile MDA-HPLC ölçüm değerleri arasında negatif yönlü anlamlı bir ilişki görülmektedir ( $r=-0,248$ ,  $p=0,016$ ). ADMA değerleri arttıkça, MDA-HPLC değerleri azalmaktadır. MDA-HPLC ölçüm değeri ile SDMA, MDA-SPK ve Ox-LDL ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir ( $p>0,05$ ). SDMA ölçüm değeri ile ADMA, MDA-HPLC, MDA-SPK ve Ox-LDL ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir ( $p>0,05$ ). Ox-LDL ölçüm değeri ile SDMA, ADMA, MDA-HPLC ve MDA-SPK ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir ( $p>0,05$ ) Gensini skor değeri ile SDMA, ADMA, MDA-HPLC, MDA-SPK ve Ox-LDL ölçüm değerleri arasında anlamlı bir ilişki görülmemektedir ( $p>0,05$ ).

## TARTIŞMA

Ateroskleroz arterleri tutan endotel disfonksiyonu ve vasküler enflamasyonla karakterize bir hastalıktır (2). ADMA'nın yüksek plazma düzeyinin bireylerde hiperkolesterolemi ve aterosklerozla bağlantılı olduğu gösterilmiştir.



Şekil 4. Ciddi KAH saptanan hastada MDA-HPLC kromotogramı

KAH: Koroner arter hastalığı, MDA: Malondialdehid, HPLC: Yüksek performans likit kromatografisi



**Tablo 1. SDMA, ADMA, MDA-HPLC, MDA-SPK VE Ox-LDL parametrelerinin Gensini skoruna göre değerlendirilmesi**

	Grup	Grup					Kruskall-Wallis H testi		
		n	Ortalama	Medyan	Minimum	Maksimum	SS	Ki-kare	p-değeri
SDMA µmol/L	A: Normal sağlıklı grup	29	0,280	0,277	0,148	0,534	0,095	0,91	0,635
	B: Minimal KAH	32	0,274	0,273	0,117	0,511	0,111		
	C: Ciddi oranda KAH	33	0,293	0,317	0,005	0,553	0,162		
ADMA µmol/L	A: Normal sağlıklı grup	29	0,284	0,280	0,096	0,641	0,103	2,26	0,323
	B: Minimal KAH	32	0,309	0,305	0,116	0,613	0,098		
	C: Ciddi oranda KAH	33	0,276	0,287	0,041	0,733	0,131		
MDA HPLC mikromol/litre	A: Normal sağlıklı grup	29	0,981	0,910	0,248	1,821	0,358	0,16	0,921
	B: Minimal KAH	32	0,980	0,960	0,42	1,678	0,283		
	C: Ciddi oranda KAH	33	1,008	0,950	0,43	1,710	0,337		
MDA SPK mikromol/litre	A: Normal sağlıklı grup	29	2,980	2,717	2,194	5,754	0,858	3,46	0,177
	B: Minimal KAH	32	2,807	2,691	2,246	4,916	0,480		
	C: Ciddi oranda KAH	33	3,122	2,927	2,194	5,754	0,825		
OKSİDE LDL ng/mL	A: Normal sağlıklı grup	29	91,0	36,0	2,3	378,9	113,4	0,25	0,884
	B: Minimal KAH	32	83,4	40,5	2,3	417,2	102,9		
	C: Ciddi oranda KAH	33	89,3	15,8	2,3	457,8	118,3		

SS: Standart sapma, SDMA: Simetrik dimetilarginin, ADMA: Asimetrik dimetilarginin, MDA: Malondialdehid, HPLC: Yüksek performans likit kromatografisi, SPK: Spektrofotometre, Ox-LDL: Okside düşük dansiteli lipoprotein, KAH: Koroner arter hastalığı

Hiperkolesterolemide ortaya çıkan endotelial vazodilatör disfonksiyonun ADMA'nın yıkımının azalması neticesinde olabileceği belirtilmiştir (6,9,18). ADMA, NOS inhibitörü olup, endotelial disfonksiyonda anahtar rol oynar. Vasküler hastalıklarda NO'nun üretimini azalması veya oksidatif stres sonucu yıkımındaki artışlar NO miktarlarını etkileyebilmektedir. NO, vazodilatör etkili ve NOS yardımı ile L-Arjinin'den sentezlenen bir moleküldür. ADMA'nın majör hidrolazı olan DDAH aktivitesindeki azalma, ADMA'nın birikmesine ve ateroskleroz için bir risk faktörü olmasına katkıda bulunur. DDAH ekspresyonunda Ox-LDL'nin etkisinin olmadığı; fakat DDAH aktivitesini azalttığı saptanmıştır. Hiperkolesterolemik tavşanlarda DDAH aktivitesinin bozulduğu gösterilmiştir. Ayrıca hiperkolesteroleminin önemli derecede aortik, renal ve hepatik DDAH aktivitesinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (18,21,26,27). İnsan umbilikal ven hücrelerinin Ox-LDL ile 24 saat boyunca inkübasyonu, DDAH'ın intraselüler aktivitesinin ve NO'nun düzeyinin azalmasına neden olduğu tespit edilirken; MDA, TNF-alfa ve ADMA'nın düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. LDL'nin oksidasyonu, endotelial disfonksiyon ve aterogeneze yol açan kritik bir süreçtir (21).

Ox-LDL, lipid peroksidasyonu süreci ile birlikte oluşmaktadır. Ox-LDL hem ADMA sentezini sağlayan PMRT enzimini indüklemekte, hemde ADMA yıkımını gerçekleştiren DDAH enzimini inhibe ederek ADMA düzeylerini artırmaktadır. Böylelikle indirekt yoldan NO sentezini azaltmaktadır (18,19).

SDMA, ADMA'nın yapısal olarak izomeridir ve NO'yu inhibe etmediği bildirilmiştir. SDMA'nın hücre içine taşınmasında arjinin ile rekabet etmesine rağmen biyolojik olarak inaktif olduğu düşünülmektedir. Hücre içine taşınmasında L-Arjinin ile yarışıyor olması dolaylı olarak NO oluşumunu azaltıyor olabilir (28-30). MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi, lipid peroksit seviyelerinin belirtici olarak kullanılır. Non-enzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehytlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur (31-34). Serbest oksijen radikalleri (süperoksit anyonu, O<sub>2</sub><sup>-</sup>) NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturmakta, böylelikle hem reaksiyonda tükenen NO düzeyi azalırken hemde damar yatağında oluşan peroksinitritin direkt toksik etkisine maruz kalınmaktadır (35). Lipid peroksidasyonu Ox-LDL ile ADMA miktarını artırır. Artan ADMA ise NO'yu inhibe eder ve böylelikle NO'nun miktarı azalmış olur (22-24).

Çalışmamızda, Ox-LDL, MDA ve ADMA'nın KAH saptanan hastalarda ve normal koroner arter saptanan kişilerde hem birbirleri ile hem de KAH ile olan ilişkilerini inceledik. Ayrıca KAH saptanan hastalarda bu parametrelerin hastalığın yaygınlığı ve ciddiyeti ile bağlantısını değerlendirdik. Meinitzer ve ark. (36) yaptıkları bir çalışmada, 2543 kişi koroner anjiyografi yapılarak

değerlendirilmiş, çalışmaya alınanların tümünde ADMA konsantrasyonları ölçülmüş ve bu hastalar 5,45 yıl boyunca takip edilerek bu süreç içerisindeki total ve kardiyovasküler mortalitelerine bakılmıştır. Sonuç olarak; plazma ADMA düzeyi pozitif olarak yaş, kadın cinsiyet, diabetes mellitus, sigara bağımlılığı, C-reaktif protein ve karışık olarak yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol ve trigliserid ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada ADMA beden kitle indeksi, hipertansiyon, LDL kolesterol veya koroner anjiyografik olarak KAH'ın varlığı veya yokluğu ile ilişkili bulunmadığı belirtilmiştir. Ayrıca glomerüler filtrasyon hızı ve homosisteinin, ADMA için kuvvetli hazırlayıcı faktör olarak saptandığı belirtilmiştir (36). Çalışmamızda da benzer şekilde KAH'nin varlığı ve yokluğu ile ADMA düzeyleri arasında ilişki gözlenmemiştir. Ateroskleroz, kökeninde oksidatif ve enflamatuvar bileşenlerin majör rol oynadığı karmaşık, multifaktöriyel bir hastalıktır. Özellikle beslenme, egzersiz, yaşam tarzı, çevresel faktörler ve genetik faktörler, bu anormal oksidatif ve enflamatuvar bileşenlerden ve hastalıkla ilişkili lipid anormalliklerinden sorumlu görülmektedir. Yerleşmiş koroner kalp hastalığı ve kanda oksidatif stresin tanımlanmış bir biyobelirteci olan artmış Ox-LDL arasındaki yakın ilişki, literatürde daha önceden bildirilmiştir (37). Päivä ve ark. (38) yaptığı bir çalışmada; LDL'nin oksidatif modifikasyonunun ateroskleroz için önemli bir etken faktör olduğu, aynı zamanda Ox-LDL'nin ADMA'nın önemli derecede birikimine sebebiyet verdiği ve plazmada hangi ADMA düzeyinin NO yapımı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Düşük ADMA düzeyi önemli derecede yüksek LDL oksidasyonu ile birlikte saptanmış ve plazma ADMA konsantrasyonu nitrat düzeyi ile ilişkili bulunduğu bildirilmiştir. Plazma ADMA düzeyinin ikili zıt rolünden bahsedilerek, yüksek ADMA düzeyinin LDL yağ asidi oksidasyonunun azaltılmasında rolü olabileceği ve de NO azalması ile oluşan endotelial disfonksiyon için bir risk faktörü olabileceğine vurgu yapılmıştır (38). Bizim çalışmamızda ciddi KAH olan bireylerde LDL kolesterol değerlerinin sağlıklı bireylere ve minimal KAH olan bireylere göre anlamlı derecede düşük saptandı. Bu durumun ciddi KAH olan kişilerin kullandıkları statin tedavisi ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda Ox-LDL, LDL ve ADMA düzeyleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, ADMA'nın düşük saptandığı ciddi KAH grubunda Ox-LDL değerleri minimal gruba göre yüksek, ADMA'nın yüksek olduğu minimum KAH grubunda ise Ox-LDL değeri düşük olduğu gözlemlendi. Bu da yüksek ADMA düzeyinin LDL yağ asidi oksidasyonunu azaltıcı rolü olduğunu desteklemektedir. Zhang ve ark. (39) yaptıkları çalışmalarda daha önceden arginin uptake'i ve metabolizmasının kalp yetersizliği ve hipertansiyonda endotelial disfonksiyon için majör belirleyici olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada endotelial L-arjinin metabolizması ve bunun uptake'i üzerine majör proaterojenik molekül olan Ox-LDL'nin etkilerini değerlendirerek 24 saat boyunca nativ-LDL veya Ox-LDL ile

endotelial hücreler bekletilmiş ve sonuç etkilere bakılmıştır. Sonuç olarak, Ox-LDL'nin %56 ile %71 arasında L-arjinin miktarını azalttığı saptanmış ve aynı zamanda ADMA'nın arttığı gösterilmiştir. Ox-LDL'nin, %60 oranında 3H-arjininin endotelial uptake'ini azalttığı gösterilen çalışmada, buna karşılık endotelial hücrenin Ox-LDL ile inkübasyonu katyonik amino asit taşıyıcı-1'in internalizasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Böylece, Ox-LDL vasıtası ile L-arjininin transportunun azalmasının genel olarak NO'ya bağlı endotelium yeteneğinde bozulmaya yol açtığını göstermişlerdir (39).

MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun düzeyinin anlaşılmasında en sık kullanılan testtir. MDA'nın ölçümü çoğunlukla tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemiyle yapılır. Çoğu deneysel sistemlerde TBA yönteminin esas olarak MDA'nın kendisini ölçtüğü gösterilmiştir. Ancak çoğu sistemde bu test MDA için spesifik olmadığından TBA ile reaksiyon veren maddelerin (TBARS) ölçümü şeklinde ifade edilir. Saf lipidlerle yapılan çalışmalar ve hayvanlar üzerinde yapılan denemeler, TBARS ölçümü ile lipid peroksidasyonunu ölçen diğer metotlar arasında iyi bir korelasyon olduğunu göstermiştir. TBARS yöntemi kolay bir ölçüm metodudur. Ve çoğu metoda göre de hızlı bir tekniktir. Fakat bu tekniğin sorunlarından birisi biyolojik materyallere uygulanmasında oluşan çeşitli problemlerdir. Çalışılan numunede var olan ya da reaksiyon esnasında oluşan pigmentler kolorimetrik ölçümü bozabilir. Ayrıca MDA dışındaki aldehitler de TBA ile renkli kompleks oluşturmak üzere reaksiyona girebilirler. Serbest MDA'nın direkt tayini en güvenilir şekilde HPLC yöntemiyle yapılır. HPLC çok hassas-hızlı bir metottur ve az numune gerektirir. Bütün bunların yanında bu teknikte numune hazırlığı aşamasında çok dikkatli olmak gerekmektedir (40). Bizim çalışmamızda MDA'nın iki farklı metodu ile bu ilişkiyi değerlendirmek amacıyla numunelerimizin ölçümü yapıldı. Sonuç olarak, ciddi KAH olmayan grupta MDA-HPLC ile yapılan ölçümde ortalama değer 0,98 µmol/L çıkarken; aynı grupta MDA-TBA yöntemi ile 2,88 µmol/L saptandı. Ciddi KAH olan grupta ise yine aynı sıralama ile ortalama değerler 1,008 µmol/L ve 3,122 µmol/L saptandı. Bu değer farklılıklarının benzer şekilde MDA ölçümünün her iki metotla karşılaştırıldığı literatürle uyumlu olduğu görüldü (41). Buna göre, MDA ölçümünde HPLC metodunun hem hızlı-hassas olması hem de numune miktarının spektrofotometrik yöntemle göre daha az olması gibi avantajlarından dolayı tercih edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

### Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışma popülasyonu statin tedavisi alan hastaları içermektedir. Statin tedavisi almayan hastaların olmaması bu sebepten dolayı statin tedavisi alan ve almayan hastaların karşılaştırılmaması bu çalışmanın kısıtlılıklarındandır.

Çalışmamızda hasta grupları arasında SDMA, ADMA, MDA'nın HPLC ve spektrofotometrik yöntemler ile ölçülen düzeyleri ve Ox-LDL değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görülmemiştir. Hasta grupları ile statin kullanımı arasında anlamlı derecede bağımlılık görülmüştür. Ciddi KAH saptanan bireylerde statin kullanımı %51,2 iken; minimal KAH saptananlarda %39,5 ve normal koroner arter saptanan grupta ise %9,3 olduğu gözlemlendi. Hasta grupları arasında total-kolesterol (TK) ve LDL kolesterol değerleri açısından anlamlı derecede bir farklılık görüldü. Ciddi koroner arter hastası olan bireylerde TK ve LDL kolesterol değerleri, sağlıklı bireylere ve minimal koroner arter hastası olan bireylere göre anlamlı derecede düşük saptandı. TK ve LDL değerleri açısından daha yüksek olmasını beklediğimiz ciddi KAH saptanan grupta bu parametrelerin daha düşük ölçülmüş olması, statin kullanımının lipit düşürücü etkisine bağlı olabilir. Literatürde, statinlerin serum TK düzeyini düşürücü etkisinin yanında hiperkolesterolemik tavsanlarda yapılan bir çalışmada endotel disfonksiyonunu tersine çevirici etkisinin olduğu, LDL ve Ox-LDL'yi düşürücü etkisi ile birlikte arter duvarında lipit peroksidasyonu düzeyi ile MDA seviyesini de azalttığı bildirilmiştir (42). Hiperkolesterolemik hastalarda yapılan bir metaanalizde ise statin tedavisinin oksidatif stres ve MDA düzeylerini düşürücü etkisi gösterilmiştir (43). Çalışmamızda da MDA düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak artış görülmemesinin nedeni statinlerin lipit peroksidasyonu üzerindeki etkisine bağlanabilir.

## SONUÇ

Sonuç olarak, yukarıda özetlenmiş olan literatür bilgisi, ADMA düzeyleri ile aterosklerotik plak yükü ve dolayısıyla KAH'ın anjiyografik yaygınlık-ciddiyet derecesi arasında pozitif yönde bir korelasyon olması gerektiğini düşündürmekle birlikte; çalışmamızda koroner arterleri normal olarak saptanan kontrol grubu, minimal ve ciddi KAH grupları arasında ADMA düzeyleri açısından fark saptanmadığı gibi, ADMA düzeyleri ile Gensini skoru arasında da anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Bu durumun bir olası açıklaması, ciddi KAH grubunda, kontrol ve minimal KAH grubuna göre statin kullanımının anlamlı derecede yüksek olmasıdır. Statinler tedavi kılavuzlarında gerek primer koruma, gerekse de sekonder koruma için önerilmektedir. Kılavuzlara göre hastanın risk faktörlerinin sayısı ve düzeyi arttıkça, lipit düşürücü tedavi başlanması önerilen LDL eşik değeri de düşmektedir. Ciddi KAH olan bireyler daha yüksek risk profiline sahip oldukları için, tedavi kılavuzları gereği bu hastalara daha yüksek oranda statin tedavisi başlanması kaçınılmazdır. Dolayısıyla, ciddi KAH grubunda daha yüksek oranda kullanılmış olan statin grubu ilaçların, lipit düzeylerini düşürdükleri gibi, ADMA düzeylerini de düşürmeleri olasıdır. Bunun sonucunda, gruplar arasında ADMA düzeyleri açısından

anlamlı fark izlenmemiş olabilir. Aynı şekilde, Gensini skoru ve ADMA arasında korelasyonun gözlemlenmemesinin nedeni, ciddi KAH grubunda daha yüksek oranda statin kullanımı nedeniyle olması muhtemeldir. Bu nedenle ciddi KAH grubunda saptanan düşük ADMA düzeylerinin vasküler yatağa yapacağı olumsuz etkilerin azalmasında etkili olacağını düşünmekteyiz. Bu hipotezin daha büyük ölçekli çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

## \*Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'ndan bilimsel araştırma izni alınmıştır (karar no: 45, tarih: 19.01.2009).

**Hasta Onayı:** Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan, aydınlatılmış onam formu alındı.

## Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: A.F.E., Konsept: K.T., Dizayn: K.T., A.A., Analiz veya Yorumlama: K.T., A.A., A.F.E., Literatür Arama: K.T., Yazan: K.T.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma için Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2009/03 proje numarası ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Landim MB, Casella Filho A, Chagas AC. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. Clinics (Sao Paulo). 2009;64:471-478.
2. Tousoulis D, Kampoli AM, Papageorgiou N, Androulakis E, Antoniadou C, Toutouzou K, et al. Pathophysiology of atherosclerosis: the role of inflammation. Curr Pharm Des. 2011;17:4089-4110.
3. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. N Engl J Med. 2007;357:1121-1135.
4. Ghisi GL, Durieux A, Pinho R, Benetti M. Physical exercise and endothelial dysfunction. Arq Bras Cardiol. 2010;95:e130-137.
5. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. Circulation. 2005;111:3481-3488.
6. Ivanova M, Artusi C, Boffa GM, Zaninotto M, Plebani M. HPLC determination of plasma dimethylarginines: method validation and preliminary clinical application. Clin Chim Acta. 2010;411:1632-1636.
7. Ng YYH, Dora KA, Lemmey HAL, Lin J, Alden J, Wallis L, et al. Asymmetric Dimethylarginine Enables Depolarizing Spikes and Vasospasm in Mesenteric and Coronary Resistance Arteries. Hypertension. 2024;81:764-775.
8. Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM, 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.
9. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial

- dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*. 1998;98:1842-1847.
10. Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Tsikas D, Hornig B, et al. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res*. 2003;57:244-252.
  11. Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*. 2001;358:2127-2128.
  12. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*. 1997;95:2068-2074.
  13. Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci*. 1998;62:2425-2430.
  14. Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis*. 2001;158:425-430.
  15. Gorenflo M, Zheng C, Werle E, Fiehn W, Ulmer HE. Plasma levels of asymmetrical dimethyl-L-arginine in patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001;37:489-492.
  16. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Schäffer J, Barbey M, Koch KM, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10:594-600.
  17. Zoccali C, Bode-Böger 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.
  18. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*. 1999;99:3092-1095.
  19. Böger RH, 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.
  20. Tang WJ, Hu CP, Chen MF, Deng PY, Li YJ. Epigallocatechin gallate preserves endothelial function by reducing the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Can J Physiol Pharmacol*. 2006;84:163-171.
  21. Tan B, Jiang DJ, Huang H, Jia SJ, Jiang JL, Hu CP, et al. Taurine protects against low-density lipoprotein-induced endothelial dysfunction by the DDAH/ADMA pathway. *Vascul Pharmacol*. 2007;46:338-345.
  22. Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Crit Rev Toxicol*. 1987;18:27-79.
  23. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem*. 1997;43:1209-1214.
  24. Esterbauer H, Wäg G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull*. 1993;49:566-576.
  25. Oishi Y, Wakatsuki T, Nishikado A, Oki T, Ito S. Circulating adhesion molecules and severity of coronary atherosclerosis. *Coron Artery Dis*. 2000;11:77-81.
  26. Yu XJ, Li YJ, Xiong Y. Increase of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in serum of high cholesterol fed rabbits. *Life Sci*. 1994;54:753-758.
  27. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. 2003;348:1546-1554.
  28. Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Förstermann U. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y<sup>+</sup> carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide*. 1997;1:65-73.
  29. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*. 1992;339:572-575.
  30. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem*. 1991;266:4244-4250.
  31. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991;11:81-128.
  32. Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001;53:33-39.
  33. Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Novembrino C, et al. Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. *Clin Chem*. 2001;47:887-892.
  34. Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem*. 2003;278:31426-31433.
  35. Holvoet P. Endothelial dysfunction, oxidation of low-density lipoprotein, and cardiovascular disease. *Thromb Haemostasis*. 1999;3:287-293.
  36. Meinitzer A, Seelhorst U, Wellnitz B, Halwachs-Baumann G, Boehm BO, Winkelmann BR, 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.
  37. Wahle KWJ, Heys SD. Atherosclerosis: hücre biyolojisi ve lipoproteinler *Current Opinion in Lipidology*. 2008;19:435-437.
  38. Päivä H, Laakso J, Ruokonen I, Luomala M, Saarela M, Solakivi T, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA), nitrate and the indices of low-density lipoprotein oxidation. *Clin Chim Acta*. 2006;371:97-101.
  39. Zhang WZ, Venardos K, Finch S, Kaye DM. Detrimental effect of oxidized LDL on endothelial arginine metabolism and transportation. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40:920-928.
  40. Grotto D, Santa Maria LD, Boeira S, Valentini J, Charão MF, Moro AM, et al. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. *J Pharm Biomed Anal*. 2007;43:619-624.
  41. Londero D, Lo Greco P. Automated high-performance liquid chromatographic separation with spectrofluorometric detection of a malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct in plasma. *J Chromatogr A*. 1996;729:207-210.
  42. Jorge PA, Almeida EA, Ozaki MR, Jorge M, Carneiro A. Efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e simvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e a aterosclerose aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos [Effects of atorvastatin, fluvastatin, pravastatin, and simvastatin on endothelial function, lipid peroxidation, and aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits]. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84:314-319.
  43. Zinellu A, Paliogiannis P, Usai MF, Carru C, Mangoni AA. Effect of statin treatment on circulating malondialdehyde concentrations: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemostasis*. 2019;10:2040622319862714.