

ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN VE KARACİĞER TOKSİSİTESİ İLE İLİŞKİSİ

Muhammed Emin Keleş

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET

Dimetilarjininler, arjininin protein metil transferaz (PRMT) enzimi yoluyla transmetilasyona uğramasıyla oluşur. Metillenmiş arjinin ise proteoliz yoluyla asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ve biyolojik olarak aktif olmayan simetrik dimetilarjinin (SDMA)'e dönüşür. ADMA'nın üretim ve atılımında karaciğer ve böbrekler önemli yer tutmaktadır. Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH), ADMA'nın metabolizmasından sorumlu esas enzimdir. Bu enzimin esas olarak bulunduğu organ karaciğerdir; ancak böbrekler, beyin, böbreküstü bezleri, pankreas ve testiste de bulunabilmektedir. ADMA, karaciğerde özellikle de DDAH-1 aracılığıyla elimine edilirken, safra ve idrarla da atılabilmektedir. Hepatik disfonksiyonu, son dönem böbrek hastalığı, endotel disfonksiyonu olan ve ateroskleroz riski artmış

olan hastalarda plazma ADMA konsantrasyonunda artış görülmektedir. Artan ADMA düzeylerinin de hepatorenal sendrom (HRS) gelişimine neden olduğu gösterilmiştir. Karaciğer sirozlu hastalarda karaciğerde ADMA birikiminin hasarı artırdığı bildirilmiştir. ADMA, nitrik oksit (NO) sentezinden sorumlu enzim olan nitrik oksit sentaz (NOS)'un direkt inhibitörüdür. NO vasküler tonusun sağlanmasında görev alır. Artan ADMA seviyelerinin neden olduğu NO düzeylerindeki azalma intrahepatik vasküler direnci artırarak sirozda oluşan karaciğer hasarını artırmaktadır. Bu derlemede karaciğer-ADMA ilişkisi, ADMA'nın NO oluşum ve etki mekanizmaları üzerine etkisi, karaciğer hasarında artan ADMA seviyelerinin organ ve sistem düzeyinde etkileri tartışılacaktır.

Anahtar kelimeler: Asimetrik dimetilarjinin, nitrik oksit, karaciğer hasarı. *Nobel Med* 2017; 13(3): 16-21

ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE AND ITS ASSOCIATION WITH LIVER TOXICITY

ABSTRACT

Dimethylarginines occur with transmethylation of arginine by the enzyme protein methyl transferase (PRMT). Then, methylated arginine undergoes proteolysis and converts to asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA) which is not active biologically. Liver and kidney have an important role in the production and excretion of ADMA. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) is the main enzyme, responsible for the metabolism of ADMA. Liver is the main organ which the enzyme substantially exists. But the enzyme may also be found in kidney, brain, adrenal glands, pancreas and testis. ADMA is eliminated especially by DDAH-1 in the liver and also excreted by bile and urine. Plasma

ADMA concentration increases in patients with hepatic dysfunction, end-stage renal disease, endothelial dysfunction and increased risk of atherosclerosis. Also increased ADMA levels have been shown to lead to the development of hepatorenal syndrome (HRS). It has been reported that accumulation of ADMA increases the liver damage in patients with cirrhosis. ADMA is the direct inhibitor of nitric oxide synthase (NOS), the enzyme responsible for the synthesis of nitric oxide (NO). NO is involved in maintaining vascular tonus. The reduction in NO levels caused by increased levels of ADMA, increases liver damage in cirrhosis via increasing intrahepatic vascular resistance. In this review; relationship between liver and ADMA, ADMA and its effect on NO formation and action mechanism, effect of increased ADMA levels in liver damage on organs and systems will be discussed.

Keywords: Asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, liver injury. Nobel Med 2017; 13(3): 16-21

GİRİŞ

Asimetrik Dimetilarjinin'in Kökeni ve Sentezi

Monometil arjinin (MMA), simetrik dimetilarjinin (SDMA) ve asimetrik dimetilarjinin (ADMA) metillenmiş arjinin türevleridirler. Metilarjininlerin sentezinde ilk basamak arjinine S-adenozil metioninden metil transferidir ve bu da intraselüler bir enzim olan protein metil transferazlar (PRMTler) tarafından gerçekleştirilir. PRMT1 en çok karaciğerde bulunmaktadır. Üç alt sınıfa ayrılan PRMT'lerin metil transferinden sorumlu olan alt grubu PRMT1'dir. İkinci basamakta ise metillenmiş proteinler proteolitik bozulmayla serbest ADMA ve SDMA'yı oluşturur.¹⁻⁴ Arjinin, L-NMMA, ADMA ve SDMA'nın yapısı Şekil 1'de görülmektedir.³

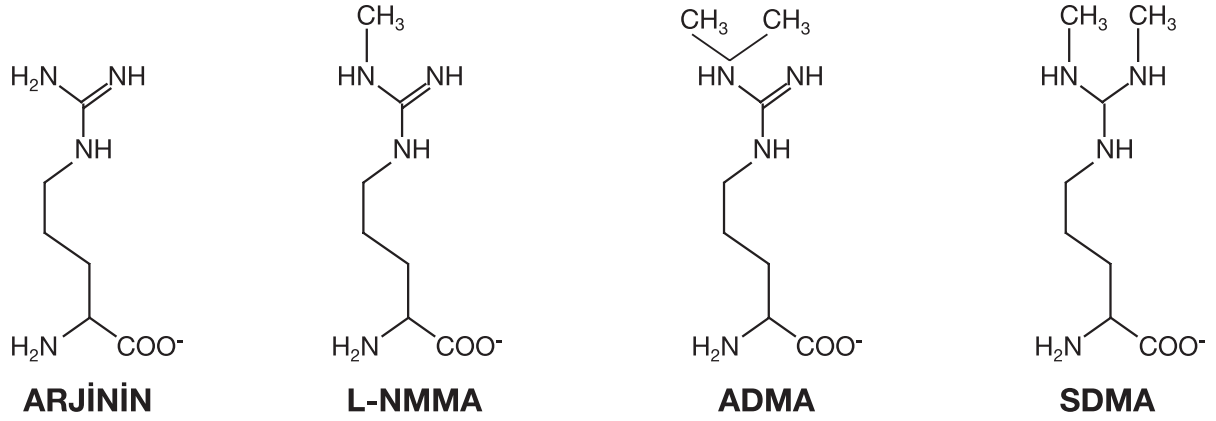
Metilarjininlerin Üretim ve Yıkımı

Özellikle karaciğer ve böbrek, ADMA sentez ve yıkımında en önemli organlardır.⁵ Erişkin bir birey günde 300 µmol (60 mg) kadar ADMA üretir.⁶ Karaciğer ADMA'yı, özellikle dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz 1 (DDAH1) aracılığıyla sitrülün ve dimetilamine hidroliz etmektedir.⁷ DDAH1 esas olarak karaciğerde olmak üzere, böbrekler, beyin, böbreküstü bezleri, pankreas ve testiste de bulunabilmektedir.^{7,8} DDAH1 aktivitesindeki azalma, karaciğer ADMA miktarlarındaki artışın ana nedenidir.^{9,10} ADMA seviyeleri üzerine DDAH'nin etkisi önem arz etmektedir. Bu enzim oksidatif strese duyarlıdır ve oksidatif stres durumlarında DDAH inhibe olarak aktivitesi azalabilir, bu da ADMA düzeylerinde artışa

neden olur. Bununla beraber ADMA, safra yoluyla da atılabilmekte ve alanin glioksilat aminotransferaz 2 tarafından α-keto-d-(N,N-dimetilguanidino) valerik asite de yıkılabilmektedir.^{3,11,12} Ayrıca ADMA'nın idrarda tespit edilebiliyor olması da düşük de olsa böbreklerden atıldığının göstergesidir.¹³

Nitrik oksit (NO), Nitrik Oksit Sentaz (NOS) tarafından L-arjininden sentezlenir. NOS'un endotelial (eNOS, tip 3), nöronal (nNOS, tip 1) ve indükte (iNOS, tip 2) izoformları vardır. ADMA, özellikle de eNOS olmak üzere bu enzimlerin endojen inhibitörüdür.¹⁴ ADMA, NOS'un 3 izoformunu da L-arjinini kompetitif olarak inhibe ederek baskılar ve NO sentezini azaltır. Ancak NOS'u inhibe eden intraselüler ADMA düzeyindeki artışur. ADMA, hem nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonu yaparak hem de NO'nun sentezlendiği L-arjininin hücre içine geçişini engelleyerek hücre içi nitrik oksit (NO) miktarını azaltmaktadır. Bazı antioksidanların DDAH aktivitesini artırdığı gözlenmiştir, bu da DDAH aktivitesinin reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından modüle edilebilir olduğunu gösterir.⁸ İnflamatuar genler PRMT'yi aktive, DDAH'ı inhibe ederek ADMA miktarında artışa yol açar. ADMA'nın kendisi de, oksidatif stres belirteci olan MDA miktarlarında artışa, antioksidan enzim ve DDAH aktivitelerinde azalmaya sebep olur.¹⁵ ADMA'nın NOS inhibisyonu Şekil 2'de görülmektedir.⁵

ADMA düzeylerinin artışı, NO'nun etkilerine zıt olarak vazokonstriksiyona, trombosit agregasyonunda artışa, hücrelerin endotele tutunmasında artışa ve vasküler kas hücrelerinin çoğalmasına yol açar. iNOS tarafından aşırı miktarda üretilen NO, süperoksit ile tepkimeye



Şekil 1. Arjinin, L-NMMA, ADMA ve SDMA'nın yapısı.³

L-NMMA: Monometil arjinin **ADMA:** Asimetrik dimetil arjinin **SDMA:** Simetrik dimetil arjinin

gerek toksik peroksinitriti meydana getirir. Çok zararlı bir oksidan madde olan peroksinitrit toksik etkilerinin yanı sıra, DDAH aktivitesinde azalmaya ve dolayısıyla ADMA düzeylerinde artışa neden olur. iNOS'un karaciğer hasarını artırdığını, bu izoformun upregülasyonunun karaciğer inflamasyonunu artırdığını bildiren yayınlar da vardır.¹⁶

ADMA Ölçüm Yöntemleri

ADMA tayin yöntemlerinden biri HPLC'dir. Bu yöntemde öncelikle plazma ve idrar matrisinden analitlerin ekstraksiyonu gerekmektedir. Bu metodun avantajları; ADMA için spesifik olması, SDMA veya MMA ile çapraz reaksiyon göstermemesi, düşük saptama limitine ve sonuçların yüksek tekrarlanabilirliğe sahip olmasıdır. Dezavantajları ise zahmetli ve yüksek maliyetli olmasıdır. Ayrıca HPLC her laboratuvarında bulunamayabilmektedir. ADMA tayininde rutin olarak kullanılabilinecek bir yöntem ise ELISA'dır. Bu yöntemde spesifik poliklonal antikorlar kullanılmaktadır. Avantajları; kolay uygulanabilir ve ADMA tayini için sensitif olmasıdır. Dezavantajı ise, tekrarlanabilirliğinin HPLC kadar iyi olmaması, poliklonal antikorların SDMA veya MMA ile çapraz reaksiyon vermesidir. Fakat bu çapraz reaksiyon %5'in altındadır.¹⁷

ADMA ve Hepatik Disfonksiyon

NO, intrahepatik vasküler tonusun esas düzenleyicilerindendir ve azalmış NO yapımı portal hipertansiyona neden olur. Portal hipertansiyonun oluşumunda ADMA, caveolin-1 ve NOSTRIN gibi NOS inhibitörlerinin rolü vardır.⁹ Portal hipertansiyonun şiddeti ile ADMA miktarları arasında korelasyon söz konusudur.¹⁸ Mookerjee ve ark., sirozda, plazma ve hepatik ADMA düzeylerinde artış görmüş ve bu artışın; azalmış hepatik eNOS aktivitesi, artmış portal basınç ve artmış mortalite ile ilişkili olduğunu

bulmuşlardır.¹⁸ Okuyucu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sıçanlara verilen ADMA, eNOS aktivitesinde inhibisyona yol açarak karaciğer perfüzyonunda bozulmaya ve karaciğerde hasara neden olmuştur. Bu çalışmada sıçanlara tedavi amacıyla bir antioksidan olan askorbik asit verilmiş, yeterli düzeyde olmasa da karaciğer hasarı azalmıştır.¹⁹

ADMA extraselüler boşluğa katyonik aminoasit taşıyıcılar (CAT'lar) tarafından salınmaktadır. CAT'lar aynı zamanda ADMA'nın karaciğerden dolaşıma geçmesinde de önemli rol alırlar. ADMA, arjinin ve SDMA'nın hücrel taşınmasını katyonik aminoasit taşıyıcılar yoluyla inhibe ederek de NO sentezini etkileyebilmektedir. ADMA, SDMA ve L-arjinin ile, hücre zarında CAT'lar aracılığıyla taşınabilmek için yarışır. CAT-2A ve CAT-2B başta olmak üzere CAT'lar diğer dokularla kıyaslandığında karaciğerde daha yüksek miktardadırlar.²⁰⁻²² Artan ADMA düzeyleri, L-arjininin CAT'lar aracılığıyla hücre içine geçişine engel olarak L-arjinin miktarında azalmaya neden olur. L-arjininin azalması NO üretiminde azalmanın yanı sıra, oksidaz aktivitesi gösteren uncoupled eNOS oluşumuna neden olmaktadır. Uncoupled eNOS, arjinin yerine moleküler oksijen ile tepkimeye girerek oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmaktadır. Böylelikle ADMA artışı oksijen radikallerinin oluşmasına neden olarak doku hasarına neden olmaktadır.¹⁵

Laleman ve ark.'nın yaptıkları çalışmada safra yolu tıkanıklığına (bile duct ligation-BDL) bağlı oluşturulan sekonder biliyer siroz modelinde plazma ADMA seviyelerinde artış görülürken, tioasetamidle oluşturulan sirozda ADMA seviyelerinde artış izlenmemiştir. Bu çalışmada safra yolu tıkanan sıçanlarda safra yolu tıkanıklığına bağlı olarak yaklaşık %50 oranında ADMA atılımında azalma olduğu görülmüş ve bu da dolaşımdaki ADMA düzeylerinde artışa neden olmuştur. BDL yapılan sıçanlarda meydana

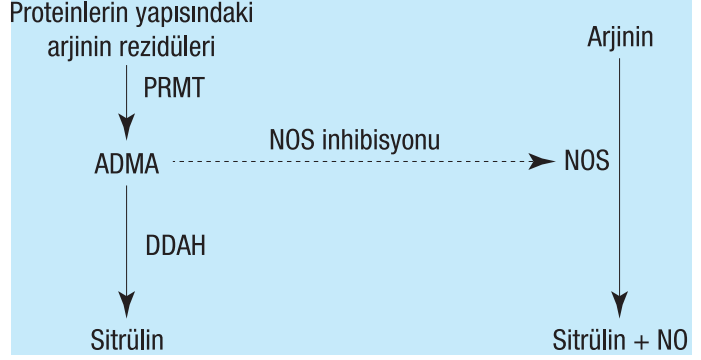
gelen karaciğer nekrozu tioasetamidle indüklenen karaciğer sirozunda meydana gelen hasardan daha az olduğu tespit edilmiş, bu da karaciğer hasarının serum ADMA konsantrasyonundaki artışla ilişkili olmadığını düşündürmüştür.²³ Ancak bu sonucun tersi olarak akut karaciğer yetersizliği, sepsis ile ilişkili karaciğer disfonksiyonu veya siroz hastalarında artmış plazma ADMA düzeyleriyle karaciğer disfonksiyonu arasındaki güçlü korelasyonu gösteren yayınlar ve ADMA'nın karaciğer hasarının derecesini göstermede bir marker olarak kullanılabileceğini bildiren yayınlar da vardır.^{24,26,27}

Ito ve ark.'nın yaptığı çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, karaciğer sirozu olan gruptaki hastalardaki üre artışına ADMA seviyelerindeki artış da eşlik etmiş; bu sonuç da karaciğer detoksifikasyonunda azalma ile teyit edilmiştir.²⁷ ADMA'nın neden olduğu bu vazokonstriksiyonun sadece böbreklerde değil, serebral arterlerde de etkili olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur.²⁸ Yukarıda belirtilen mekanizmalarla ADMA'nın NO üzerine etkisi düşünüldüğünde artan ADMA seviyeleri böbrek damarları üzerinde vazokonstriktör etkiye neden olacak, bu da böbrek yetersizliğinin gelişmesini hızlandıracaktır.

Karaciğerde Dimetilarginin Metabolizması ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

ADMA/DDAH/NO yolağı birçok hastalığın fizyopatolojisinden sorumlu olduğu gibi, karaciğer hastalıklarının fizyopatolojisinden de sorumlu tutulmaktadır. ADMA düzeyleri alkolik hepatitte, karaciğer sirozunda ve akut karaciğer yetmezliğinde (ALF) artmaktadır. Hepatik iskemi-reperfüzyonda da ADMA/DDAH yolağında değişiklikler meydana gelmektedir. Reperfüzyonun erken dönemlerinde (ilk 1 saat) DDAH mRNA ekspresyonunda azalma, ADMA düzeylerinde ise artış meydana gelmektedir. İskemi-reperfüzyon koşullarında artan ADMA, NO/endotelin dengesini değiştirmekte ve karaciğer hasarına neden olabilecek olan vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Siroz ve arkadaşlarının çalışmasında, preoperatif karaciğer transplantasyonu hastalarının sağlıklı bireylerle kıyaslandığında daha yüksek ADMA düzeylerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Hem ALF hem de kronik karaciğer yetmezliği olan hastalarda transplantasyondan 1 gün sonra plazma ADMA düzeyleri düşmüştür.²⁹ ADMA'nın, portal hipertansiyon ve sirozda karaciğer ve splanknik dolaşımdaki farklı metabolizmaları Şekil 3'te görülmektedir.³⁰

Mookerjee ve ark.'nın yoğun bakımda yatan hastalar üzerinde yaptığı başka bir çalışmada ise, asetaminofenin yüksek dozda alınmasına bağlı gelişen

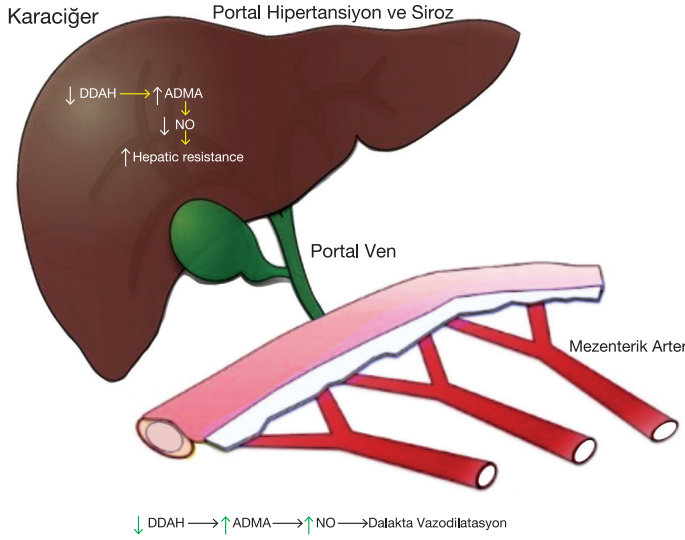


Şekil 2. ADMA'nın NOS inhibisyonu.⁵

karaciğer yetmezliği hastalarının yoğun bakıma kabul edildikleri andaki ADMA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada, transplantasyon esnasındaki anhepatik fazda ADMA düzeylerinde artış görülmüştür. Portal ven ve hepatic arterin reperfüzyonunun sağlanması ADMA miktarlarını azaltmış ve reperfüzyondan sonraki süreçte ADMA miktarlarındaki azalma devam etmiştir. Aynı çalışmada, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 proinflatuar mediyatörleri ile ADMA arasında pozitif korelasyon tespit edilmiş ve en yüksek sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) skoruna sahip olanlarda ADMA düzeyleri en yüksek tespit edilmiştir.³¹ Bu sonuçlar da karaciğerin ADMA klirensiyle doğrudan ilişkili olduğunu ve ADMA düzeylerinin transplantasyon sonrası dönemde hastaların progresyonunun takibinde kullanılabileceğini göstermektedir. Ayrıca ADMA'nın, proinflatuar sitokinler ve reaktif oksijen radikalleri nedeniyle oluşan inflamasyona bizzat katkı sağladığı görülmektedir.²⁹

Trocha ve ark.'nın 2-4 aylık (insan yaşına göre 10-15 yıl) ve 12-14 aylık (insan yaşına göre 50 yaş üstü) 2 farklı yaş grubundaki sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada, karaciğerler iskemiye uğratılmış, ilk 15 dakikada genç grupta ADMA konsantrasyonu artarken yaşlı grupta azalma görülmüştür. 240. dakikada ise ADMA konsantrasyonu gruplar arasında daha paralel izlenmiş ancak; genç grupta yine daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada ölçülen iNOS aktivitesi de sadece genç sıçan grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ölçülmüştür.³² Bu çalışma bize; yaşlı karaciğerlerin iskemi-reperfüzyona daha dayanıklı olduklarını, daha az serbest radikal ürettiklerini ve genç karaciğerlerde daha belirgin olmak üzere ADMA'nın iskemi-reperfüzyon altında yükseldiğini göstermiştir.

Bal ve ark.'nın çalışmasında sıçanlara lipopolisakkarit/ D-galaktozamin (LPS/D-GalN) verilerek karaciğer hasarı oluşturulmuştur. LPS/D-GalN verilen grupta, karaciğer DDAH aktivitesinde azalma, arjinin ve



Şekil 3. ADMA'nın portal hipertansiyon ve sirozda, karaciğer ve splanchnik dolaşımdaki farklı metabolizmaları³⁰

ADMA miktarlarında artma tespit edilmiştir. Sıçanlara metformin verildiğinde ise DDAH aktivitesi artmış ve arjinin ile ADMA düzeyleri kontrol seviyesine gerilemiştir. Aynı çalışmada, karaciğer glutasyon düzeylerinde azalma meydana gelmiş ve bu azalmanın nedeni olarak prooksidan aktivitedeki artış gösterilmiştir. Karaciğer dokusundaki miyeloperoksidaz aktivite artışının inflamasyonu gösterdiği ve DDAH aktivitesindeki azalmanın da bu inflamasyondan kaynaklandığı yorumu yapılmıştır.³³

SONUÇ

Literatüre bakıldığında birçok hastalığın fizyopatolojisinde ADMA artışı dikkat çekmektedir. Artmış ADMA düzeyleri endotelial disfonksiyon, vazokonstriksiyon, periferik arter hastalıkları, koroner arter hastalıkları, preeklampsi, hipertansiyon, inme, kalp yetersizliği, kronik böbrek hastalığı, sirozda görülen portal hipertansiyon, diabetes mellitus ve esansiyel hipertansiyon hastalarındaki insülin direnci

ile ilişkili bulunmuştur.³⁴ ADMA'nın karaciğer hastalıklarında arttığı bilinmektedir, ancak ADMA artışının karaciğer hasarının nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu üzerine tartışmalar devam etmektedir. Farklı görüşler olsa da genel olarak elde edilen sonuçlar ve fizyopatolojik mekanizmalar, artan ADMA düzeylerinin karaciğer hasarının gelişiminde rolü olabileceğini düşündürmektedir ancak neden sonuç ilişkisi halen netleşmemiştir.

Plazma ADMA düzeylerinin farmakoterapi ve diyalizle azaltılabileceğine dair yayınlar vardır.³⁵ ADMA, böbrek fonksiyonları üzerine etkilerini cGMP düzeylerini azaltarak gösterir. Azalan cGMP düzeyleri renal vasküler direnci artırır, renal plazma akımını ve sodyum atılımını azaltır. Renin-angiyotensin sistemi inhibitörleri kullanılarak yüksek plazma ADMA düzeyleri başarıyla düşürülmüştür.³⁶ ADMA (~202 Da), üreye (60 Da) benzer düşük molekül ağırlığına sahip olduğu için diyaliz tedavisi ADMA düzeylerini azaltmak için bir seçenek olarak görünmektedir.^{37,38} DDAH aktivitesi çeşitli sinyal yolları aracılığıyla artırılmaktadır. Bir farnesoid X reseptör agonisti olan GW4064, DDAH1 gen ekspresyonunda artışa ve ADMA düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır.³⁹ Flavonoidlerin ve antioksidanların ADMA/DDAH üzerine etkileri de çalışılmaya devam etmektedir. Trocha ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, bir flavanoid olan kuersetin düşük dozlarda verildiğinde karaciğerde ADMA düzeyinde azalma ve DDAH aktivitesinde artış görülmüştür.⁴⁰ ADMA düşürücü tedaviler ilerde karaciğer hastalıklarında bir tedavi yaklaşımı olabilir.

Sonuç olarak, karaciğer hasarı ile ilgili yapılan çalışmalarda ADMA düzeylerindeki artış gösterilmiştir. Karaciğer hasarı fizyopatolojisinde ADMA'nın rolü ve ayrıca terapötik yaklaşımlardaki potansiyel rolü ile ilgili daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

*Yazarlar herhangi bir çıkar ilişkisi içinde bulunmadıklarını bildirmiştir.

C	İLETİŞİM İÇİN: Muhammed Emin Keleş Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sıhhiye, 06100 Ankara emin.keles@hacettepe.edu.tr
✓	GÖNDERİLDİĞİ TARİH: 28 / 02 / 2017 • KABUL TARİHİ: 02 / 05 / 2017

KAYNAKLAR

1. Paik WK, Kim S. Protein methylase I purification and properties of the enzyme. *J Biol Chem* 1968; 243: 2108-2114.
2. Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atheroscler Suppl* 2003; 4: 33-40.
3. Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24: 1023-1030.
4. Zakrzewicz D, Eickelberg O. From arginine methylation to ADMA: a novel mechanism with therapeutic potential in chronic lung diseases. *BMC Pulm Med* 2009; 9: 5.
5. Wilcken DE, Sim AS, Wang J, Wang XL. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of L-arginine on its metabolism. *Mol Genet Metab* 2007; 91: 309-317.
6. Bode-Böger SM, Scalera F, Ignarro LJ. The L-arginine paradox: importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther* 2007; 114: 295-306.
7. Trocha M, Merwid-Ląd A, Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine synthesis and degradation under physiological and pathological conditions. *Adv Clin Exp Med* 2010; 19: 233-243.
8. Palm F, Onozato ML, Luo Z, Wilcox CS. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: H3227-H3245.

9. Mookerjee RP, Mehta G, Balasubramanian V, et al. Hepatic dimethylarginine-dimethylaminohydrolase1 is reduced in cirrhosis and is a target for therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 2015; 62: 325-331.
10. Jacobi J, Sydow K, von Degenfeld G, et al. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase reduces tissue asymmetric dimethylarginine levels and enhances angiogenesis. *Circulation* 2005; 111: 1431-1438.
11. Ferrigno A, Rizzo V, Bianchi A, et al. Changes in ADMA/DDAH pathway after hepatic ischemia/reperfusion injury in rats: the role of bile. *Biomed Res Int* 2014; 2014.
12. Rodionov RN, Murry DJ, Vaulman SF, et al. Human alanine glyoxylate aminotransferase 2 lowers asymmetric dimethylarginine and protects from inhibition of nitric oxide production. *J Biol Chem* 2010; 285: 5385-5391.
13. Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine in end-stage renal disease patients: a biomarker modifiable by calcium blockade and angiotensin II antagonism? *Kidney Int* 2006; 70: 2053-2055.
14. 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 the AtheroGene Study. *Circ Res* 2005; 97:e53-e59.
15. Sydow K, Münzel T. ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl* 2003; 4: 41-51.
16. Fan C, Zwacka RM, Engelhardt JF. Therapeutic approaches for ischemia/reperfusion injury in the liver. *J Mol Med* 1999; 77: 577-592.
17. Schulze F, Wesemann R, Schwedhelm E, et al. Determination of asymmetric dimethylarginine (ADMA) using a novel ELISA assay. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 1377-1383.
18. Mookerjee RP, Malaki M, Davies NA, et al. Increasing dimethylarginine levels are associated with adverse clinical outcome in severe alcoholic hepatitis. *Hepatology* 2007; 45: 62-71.
19. Okuyucu A, Şalıoğlu Ö, Alıcı Ö, et al. The restorative effect of ascorbic acid on liver injury induced by asymmetric dimethylarginine. *Turk J Biol* 2016; 40.
20. Förstermann U, Schmidt HH, Pollock JS, et al. Isoforms of nitric oxide synthase characterization and purification from different cell types. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 1849-1857.
21. Hattori Y, Kasai K, Gross SS. Cationic amino acid transporter gene expression in cultured vascular smooth muscle cells and in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999; 276: H2020-H2028.
22. Ferrigno A, Di Pasqua LG, Berardo C, et al. Liver plays a central role in asymmetric dimethylarginine-mediated organ injury. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 5131.
23. Laleman W, Omasta A, Van de Casteele M, et al. A role for asymmetric dimethylarginine in the pathophysiology of portal hypertension in rats with biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2005; 42: 1382-1390.
24. Davis JS, Darcy CJ, Yeo TW, et al. Asymmetric dimethylarginine, endothelial nitric oxide bioavailability and mortality in sepsis. *PLoS One* 2011; 6: e17260.
25. Nijveldt R, Teerlink T, Van Der Hoven Ba, et al. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Crit Care* 2003; 7: 1-1.
26. Lluch P, Torondel B, Medina P, et al. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. *J Hepatol* 2004; 41: 55-59.
27. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, et al. Novel mechanism for endothelial dysfunction dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999; 99: 3092-3095.
28. Segarra G, Medina P, Vila JM, et al. Inhibition of nitric oxide activity by arginine analogs in human renal arteries. *Am J Hypertens* 2001; 14: 1142-1148.
29. Siroen MP, Warlé MC, Teerlink T, et al. The transplanted liver graft is capable of clearing asymmetric dimethylarginine. *Liver Transpl* 2004;10: 1524-1530.
30. Lluch P, Segarra G, Medina P. Asymmetric dimethylarginine as a mediator of vascular dysfunction in cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 9466.
31. Mookerjee RP, Dalton RN, Davies NA, et al. Inflammation is an important determinant of levels of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine (ADMA) in acute liver failure. *Liver Transpl* 2007; 13: 400-405.
32. Trocha M, Merwid-Ląd A, Chlebda-Sieragowska E, et al. Age-related changes in ADMA-DDAH-NO pathway in rat liver subjected to partial ischemia followed by global reperfusion. *Exp Gerontol* 2014; 50: 45-51.
33. Bal F, Bekpınar S, Unlucerci Y, et al. Antidiabetic drug metformin is effective on the metabolism of asymmetric dimethylarginine in experimental liver injury. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 106: 295-302.
34. Sheen JM, Chen YC, Tain YL, Huang LT. Increased circulatory asymmetric dimethylarginine and multiple organ failure: bile duct ligation in rat as a model. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 3989-4006.
35. Beltowski J, Kedra A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacol Rep* 2006; 58: 159-178.
36. Yılmaz M, Sağlam M, Sönmez A, et al. Improving proteinuria, endothelial functions and asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease: ramipril versus valsartan. *Blood Purif* 2007; 25: 327-335.
37. Schmidt RJ, Domico J, Samsell LS, et al. Indices of activity of the nitric oxide system in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 228-234.
38. Anderstam B, Katzarski K, Bergström J. Serum levels of NG-dimethyl-L-arginine, a potential endogenous nitric oxide inhibitor in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1437-1442.
39. Hu T, Chouinard M, Cox AL, et al. Farnesoid X receptor agonist reduces serum asymmetric dimethylarginine levels through hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 gene regulation. *J Biol Chem* 2006; 281: 39831-39838.
40. Trocha M, Merwid-Ląd A, Szuba A, et al. Effect of Quercetin-5'-sulfonic Acid Sodium Salt on SOD Activity and ADMA/DDAH Pathway in Extracorporeal Liver Perfusion in Rats. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21: 423.