

М.А. Гишинский, Е.Ю. Брусенцев

ЭНДОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ БИОДОСТУПНОСТИ ОКСИДА АЗОТА. КЛИНИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ И ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ

ГУ НИИ физиологии СО РАМН, Новосибирск

В обзоре рассматриваются два пути регуляции биодоступности оксида азота, реально существующие в организме. Первый состоит в конкурентной блокаде NO синтазы асимметричным диметиларгинином. Второй путь сводится к ограничению транспорта L-аргинина как субстрата NO синтазы в клетку. Этот путь реализуется при участии симметричного диметиларгинина. Приводятся данные о связи повышения концентрации диметиларгининов с развитием эндотелиальной дисфункции и сопутствующих сердечно-сосудистых патологий. Оценивается перспектива использования диметиларгининов в качестве независимых маркеров сердечно-сосудистых событий. Анализируются возможные причины неоднозначности результатов изучения диметиларгининов различными исследовательскими группами.

Ключевые слова: диметиларгинины, оксид азота, биодоступность, эндотелиальная дисфункция.

Оксид азота (NO) играет важнейшую роль в обеспечении функций сердечно-сосудистой системы. Анализ этой роли посвящены многочисленные отечественные и зарубежные обзоры [1, 2, 3, 4, 5]. Наиболее примечательным результатом влияния NO является формирование в мышечном слое сосудов циклического ГМФ, приводящее к сдвигу концентрации ионов кальция и, как следствие, к релаксации гладких мышц. NO угнетает пролиферацию клеток гладкой мускулатуры сосудов, снижает активацию тромбоцитов, а также уменьшает адгезию моноцитов и тромбоцитов к стенкам сосудов. Под влиянием NO редуцируются повреждения интимы. Таким образом, NO тормозит развитие атеросклероза и стимулирует ангиогенез [6].

NO продуцируется при каталитическом превращении L-аргинина в L-цитруллин с участием фермента NO-синтазы (NOS). Описано три изоформы NO-синтаз: эндотелиальная (eNOS), нейрональная (nNOS) и индуцибельная (iNOS). С развитием исследований появляются сообщения об обнаружении различных модификаций этих NOS, однако в аспекте влияния на сердечно-сосудистую систему наибольший интерес представляет эндотелиальная NOS.

Настоящая работа посвящена роли недавно открытых эндогенных регуляторов биодоступ-

ности оксида азота — асимметричного и симметричного диметиларгининов (АДМА и СДМА) в обеспечении деятельности сосудистого эндотелия. Отметим сразу, что если количество публикаций относительно роли АДМА уже превысило 500, то исследования СДМА только начинаются.

АДМА является конкурентным блокатором NOS, которому приписывается значительная доля ответственности за возникновение эндотелиальной дисфункции. Последняя определяется как дисбаланс между факторами, обеспечивающими процессы гемостаза, миграции клеток крови в сосудистую стенку и сосудистый тонус [1]. Более узкое определение этой патологии сводится к «снижению способности сосудистого эндотелия вызывать вазодилатацию» [6].

Эндотелиальная дисфункция играет чрезвычайно важную роль в развитии атеросклероза и в создании патологических условий, предрасполагающих к атеросклерозу. Существует точка зрения, что конечным звеном патогенных влияний многих факторов риска сердечно-сосудистой системы является дисфункция эндотелиальной цепи: L-аргинин — оксид азота. Речь идет об артериальной гипертензии, диабете, курении, гиперхолестеринемии, гипергомо-

цистеинемии, воспалении сосудистой стенки, [7, 8, 9, 10], а также почечной недостаточности [11, 12].

Основными причинами снижения биодоступности оксида азота, приводящего к появлению эндотелиальной дисфункции, могут быть падение активности eNOS, и/или усиленный распад NO при усилении оксидативного стресса. В последние годы недостаточная продукция оксида азота ассоциируется с увеличенным уровнем эндогенного конкурентного ингибитора eNOS — АДМА. Эндогенная аминокислота АДМА известна с 70-х годов прошлого века, однако широкие исследования роли АДМА в патогенезе эндотелиальной дисфункции и связанных патологий начались лишь после работы Волэнси с соавторами [13]. Был обнаружен весьма высокий уровень АДМА в крови пациентов с почечной недостаточностью в терминальной стадии и высказано предположение, что накопление АДМА приводит к уменьшению синтеза NO. Этим объяснялось развитие гипертензии и снижение иммунитета, наблюдавшееся авторами при хронической почечной недостаточности. Накопленные за последние годы данные свидетельствуют, что АДМА не является только «уремическим токсином», но может быть фактором риска эндотелиальной дисфункции и атеросклероза, а также предвестником летальности в некоторых популяциях пациентов [11, 14].

Обширные данные по синтезу и метаболизму АДМА сведены и детально проанализированы лишь недавно [15]. АДМА возникает в результате посттрансляционного метилирования клеточных белков с последующим их гидролизом. Катализаторами метилирования аргининовых остатков являются протеин-аргинин-метилтрансферазы (PRMT). В сутки в организме человека появляется около 300 микромолей т.е. около 60 мг АДМА. С мочой экскретируется только около 50 микромолей. Остальные 250 микромолей гидролизуются ферментом диметиларгинин диметиламиногидролазой (DDAH) в диметиламин и L-цитруллин [11].

Итак, гуанидин-замещенные аналоги L-аргинина: монометиларгинин (ММА) и АДМА служат эндогенными конкурентными блокаторами NOS. Внимание исследователей привлекает, в основном, роль АДМА, поскольку его концентрация в крови на порядок выше, чем ММА. Симметричный диметиларгинин (СДМА) — стереоизомер АДМА — не обладает выраженным эффектом в отношении eNOS [16].

Интересные идеи о роли АДМА в регуляции синтеза NO были высказаны проф. Богером и коллегами [7, 17]. Показатель насыщения фермента — константа Михаэлиса K_m для эндотелиальной NOS оказалась равной 2,9 микромоля. Свежие препараты изолированных эндотелиальных клеток содержали до 2 миллимолей L-аргинина. Сопоставление этих цифр показывает, что эндотелиальная NOS должна быть насыщенной всегда. Однако многочисленные данные, собранные в работах [см. 7, 17], показывают, что как добавление L-аргинина в пищу, так и внутривенное его введение дополнительно увеличивают продукцию NO в эндотелии сосудов. Этот феномен был назван «аргининовым парадоксом». Более того, оказалось, что введение L-аргинина животным и людям, страдающим гиперхолестеринемией, снижает эндотелиальную дисфункцию за счет дополнительной продукции NO.

В качестве объяснения «аргининового парадокса» Богер и коллеги [7, 17] предположили, что в интактных клетках NOS постоянно угнетается некими эндогенными ингибиторами. Даже в нормальных, физиологических условиях активность NOS не достигает максимального уровня V_{max} , хотя концентрация L-аргинина в тканях более чем достаточна для этого. В патологических условиях клеточная концентрация ингибиторов может нарастать, еще более подавляя активность NOS и снижая уровень NO ниже физиологической нормы. При таком механизме регуляции NO введение L-аргинина замещает часть внутриклеточных ингибиторов внеклеточным L-аргонином, вновь поступившим через y^+ — систему транспорта основных аминокислот. Перевес в балансе L-аргинин — ингибиторы NOS в пользу аргинина приводит к активации синтеза NO [7, 10, 17].

Существование такого механизма подтверждается экспериментальными фактами. АДМА дозозависимо (!) угнетал активность эндотелиальной NOS [13]. Эндотелиальные клетки, инкубированные в среде с концентрацией АДМА, соответствующей концентрации, наблюдаемой у людей при гиперхолестеринемии, генерировали меньше NO, но больше супероксидных анионов. Эти клетки характеризовались повышенной адгезией моноцитов [10]. Наконец, у трансгенных по DDAH мышей с пониженным в 2 раза уровнем АДМА в крови, содержание в плазме и моче суррогатных коррелятов синтеза NO — окислов азота было повышено двукратно [11, 18].

Диметиларгинины и риск сердечно-сосудистых заболеваний. Итак, АДМА угнетает NOS и снижает генерацию NO. Эти факты определяют его патофизиологическую роль в организме. При введении АДМА в организм человека и животного регистрируется вазоконстрикция, растет артериальное давление, снижается эндотелий-зависимая вазодилатация и увеличивается адгезия эндотелиальных клеток [11, 13, 19]. Подобно экзогенным ингибиторам NOS, АДМА при длительном применении усиливает атерогенез и вызывает повреждения органов-мишеней, сходные с наблюдаемыми при гипертензии [18].

Главные аргументы в пользу включения АДМА в число факторов риска сердечно-сосудистой системы базируются на обнаружении повышенного уровня АДМА у людей с явными симптомами атеросклероза [20], при гиперхолестеринемии и гипергомоцистеинемии [9], у пациентов, страдающих гипертензией [21] или диабетом [22]. Однако существует точка зрения, что в литературе стабильно подтверждается повторными экспериментами только связь уровней АДМА и холестерина. Данные по остальным ассоциациям выглядят отрывочными и получены на сравнительно небольшом материале [23]. Одно из объяснений этого — сложность методик определения АДМА. Некоторые составляющие методик способны дестабилизировать результат измерения.

Уровень АДМА в крови оказался увеличенным на фоне сердечной недостаточности. Он возрастал и в эксперименте при искусственно сформированной сердечной недостаточности (многодневная беговая нагрузка на тредбане) у собак [24]. Ответить на вопрос, связан ли причинно эффект АДМА в условиях сердечной недостаточности непосредственно с регуляцией сократимости сердца или его эффекты реализуются через функцию эндотелия сосудов, сейчас не представляется возможным [23].

В проспективном исследовании пациенты, направлявшиеся на операцию чрескожной ангиопластики по поводу стабильной стенокардии, были разделены на три группы по уровню АДМА в плазме [25]. Концентрации АДМА, измеренные в группах 1-3, были соответственно: менее 0,5 μM ; 0,50-0,62 μM ; и более 0,62 μM . Риск серьезных сердечно-сосудистых осложнений был рассчитан спустя 16 месяцев. Для второй группы он был в 3, а для третьей — в 5,3 раза выше, чем для первой. Уровень АДМА в третьей группе оказался значимым, независимым фактором риска смерти или нефат-

ального инфаркта в этот относительно короткий срок.

Примечательны результаты многоцентрового исследования CARDIAC (Coronary Artery Risk Determination investigation the Influence of ADMA Concentration), проведенного в Германии [26]. В исследование было вовлечено 800 взрослых (25-85 лет), из которых половина страдала сердечно-сосудистыми заболеваниями. В этой работе не было обнаружено значимых различий между группами пациентов и контроля по классическим показателям. Это объяснялось приемом пациентами статинов и других препаратов. В этих условиях концентрация АДМА в плазме пациентов была достоверно на 20% выше, чем в контроле, а СДМА — на 50%. Не обнаружено различий по уровню метиларгининов между мужчинами (3/4 состава группы) и женщинами (1/4 состава). При увеличении концентрации АДМА в крови на 1 μM риск коронарных заболеваний увеличивался в 2,35 раза. При этом пороговое значение концентрации АДМА, отличающее контроль от пациентов по соотношению риска 1/8 оказалось равным 1,75 μM . Отметим, что СДМА, не игравший роли на фоне высоких значений АДМА, приобретал диагностический смысл для уточнения прогноза при значениях АДМА ниже порогового уровня.

Наиболее контрастные результаты в отношении АДМА как фактора риска сердечно-сосудистых осложнений, были получены у больных хронической почечной недостаточностью. Анализ американской базы данных показывает, что смертность от сердечно-сосудистых осложнений среди пациентов, использующих диализ, значительно выше, чем в контрольной выборке, сходной по возрасту. Для 70-летних пациентов это отношение равно пяти, для лиц среднего возраста оно возрастает до 60, а для группы 25-30 лет достигает 500 [12, 27]. Именно при исследовании таких больных было впервые показано многократное увеличение концентрации АДМА в крови и высказано предположение о связи уровня АДМА с нарушением генерации оксида азота и возникновением патологий, сопутствующих почечной недостаточности [38].

Интенсивное изучение возможной связи нарушения экскреции АДМА и возникновения сердечно-сосудистых заболеваний началось после анализа АДМА в крови пациентов, находившихся на гемодиализе [28]. Оказалось, что уровень АДМА у пациентов с признаками ате-

росклероза значительно превышает таковой у пациентов без атеросклероза. Проведенные затем исследования установили у пациентов с хронической почечной недостаточностью связь уровня АДМА с утолщением интимы каротидных артерий, а также с гипертрофией левого желудочка [27], причем только с концентрическим типом гипертрофии, характерным для нарушения синтеза NO. Примечательно, что такая связь не зависела от других факторов риска.

В проспективном (33 месяца) исследовании АДМА как предиктора сердечно-сосудистых событий, его уровень измерялся у 225 пациентов с почечной недостаточностью в конечной стадии, регулярно использующих гемодиализ [29]. Исходный уровень АДМА в крови этих людей, как погибших, так и переживших осложнения был достоверно (в 2,5 раза) выше, чем у здорового контроля. АДМА оказался вторым по значимости после возраста, независимым (!) предиктором гибели пациентов, использующих диализ. Показатель риска сердечно-сосудистых событий был почти в 3 раза выше в последней квинтиле распределения пациентов по уровню АДМА, чем в его первой половине. В другом проспективном исследовании [30] смертность пациентов реанимационного отделения, имевших уровень АДМА в высшей квинтиле распределения, в 17 раз превышала смертность пациентов с уровнем АДМА в низшей квинтиле.

Участие диметиларгининов в формировании сердечно-сосудистых патологий не сводится только к конкурентной блокаде NOS. Рост концентрации асимметричного диметиларгинина в крови сопровождается подавлением доступа аргинина в клетки крови, причем это подавление значительно сильнее у пациентов-гипертоников. Проведенные исследования позволили считать, что снижение доступности L-аргинина для заинтересованных клеточных элементов эндотелия и крови является важной причиной возникновения гипертензии [31].

Недавно показано, что симметричный диметиларгинин, который в отличие от асимметричного не элиминируется ферментативно, а главным образом экскретируется с мочой, эффективно контролирует транспорт аргинина в клетки. Оказалось, что не участвующий в конкуренции за eNOS и потому обойденный вниманием СДМА может дозозависимо тормозить синтез NO клетками эндотелия, не влияя на eNOS. Предполагается, что СДМА способен угнетать транспорт аргинина в клетки эндоте-

лия. Более того, на фоне слабо выраженных различий по остальным параметрам уровень СДМА может быть весьма ценным критерием нарушения деятельности почек и нарастания сердечно-сосудистых проблем [32, 33].

Анализ литературы демонстрирует важную роль АДМА в регуляции биодоступности NO и, таким образом, в регуляции функций эндотелия сосудов. К сожалению, объем накопленной на сегодня информации об эффектах АДМА слишком мал для широкого клинического использования данных. Неизвестные, но необходимые для понимания вопроса сведения об АДМА были недавно систематизированы [23]. Оказалось, например, что мы не знаем, может ли уровень эндогенного АДМА в крови реально достигать значений, достаточных для угнетения NOS. Неясно, является ли активность DDAH главным фактором, определяющим уровень АДМА. Не определено, действительно ли изменения АДМА служат инициатором патофизиологических процессов в организме. Причинная связь уровня АДМА с заболеванием была бы подтверждена путем предотвращения болезни или улучшения состояния при вмешательствах, снижающих уровень АДМА в крови. Таких работ пока нет.

Результаты массированных, проспективных исследований, проведенных в последние годы, выглядят скромнее, чем результаты более ранних работ с анализом малых когорт пациентов. Чаще всего снижение контрастности данных или отсутствие различий с контролем объясняется невозможностью набора больших групп пациентов с четкой единственной патологией, без или с одинаковой терапией. Влияет и исключение крайних в выборке величин АДМА из-за других показателей пациента. Однако, основные тенденции в оценке значимости АДМА, за единственным исключением [33] пока не отвергались и не подвергались пересмотру.

Источники нестабильности при анализе диметиларгининов. По данным литературы значительная часть расхождений в определяемых величинах диметиларгининов возникает из-за сложности и неоднозначности методических приемов. Действительно, процесс измерения до последнего времени включал три фазы, каждая из которых подвержена случайным воздействиям. Обычно на первом этапе используют предпочистку аргинина и метилированных производных на катионитных ионообменниках. Затем производится предколоночная дериватизация флуорогенным препаратом (чаще всего

ортофталевый диальдегид) и, наконец, разделение и количественный анализ дериватов при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с флуориметрической детекцией [34]. Чувствительности обычных UV детекторов недостаточно для определения низких концентраций этих аминокислот.

Наиболее нестабильными этапами работы с образцами крови являются выделение основных аминокислот на ионообменнике и дериватизация этих аминокислот флуорогеном. По нашему опыту даже небольшое отклонение в параметрах этих процессов меняет показатель концентрации наполовину. Существенными преимуществами в этом смысле обладает технология, позволяющая избежать промежуточной очистки образца и использующая для детектирования масс-спектрометр с источником ионизации типа «электроспрей» [35]. Отметим только, что стоимость масс-спектрометрического детектора на порядок превышает стоимость детектора флуориметрического. Да и содержание высоковакуумной аппаратуры требует средств и специальных навыков.

Простым и надежным способом определения АДМА, особенно при массовых исследованиях, следует, по-видимому, считать метод связанного с ферментом иммуносорбента (Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay, ELISA). Недавно появились работы с описанием характеристик этого метода и соответствующих наборов. Однако первые попытки использовать этот метод в других лабораториях были обескураживающими. Результаты измерений были чрезмерно вариабельными, как при измерениях в пределах одной группы, так и при анализе межгрупповых различий. Более того, не найдено корреляции между данными, полученными этим способом и при помощи ВЭЖХ.

Представляется, что существуют дополнительные, не учитываемые сегодня факторы, влияющие на результат измерения уровня АДМА и/или на процедуру подготовки/отбора пациентов. Можно разделить эти факторы на несколько групп. Первая группа — факторы, определяющие неоднозначность эффектов АДМА на развитие патологических процессов. Ко второй группе можно отнести факторы, влияющие на измеряемые величины АДМА.

К первой группе можно отнести полиморфизм генов eNOS [36]. В результате полиморфизма часть eNOS, а соответственно и дисфункция эндотелия, могут не зависеть от L-аргинина и АДМА. Кроме того, деструктивные

эффекты АДМА в определенных условиях могут быть не связаны с блокадой eNOS. Такие эффекты зарегистрированы у мышей, нокаутных по гену eNOS. Основным инструментом в действии АДМА, приводящим к поражению эндотелия сосудов, в этом случае предполагается ангиотензинпревращающий фермент. Наконец, известно, что снижение уровня АДМА, с одной стороны, увеличивает биодоступность NO, что оказывает антиатерогенный эффект, а с другой — облегчает окисление ЛПНП, что способствует развитию атеросклероза [37].

Ко второй группе можно отнести такой фактор, как диета. Известно, что даже разовое употребление жирной пищи значительно повышает концентрацию АДМА в крови, а повышенное потребление углеводов ассоциируется со снижением уровня АДМА [38]. Последние авторы показали также, что употребление алкоголя нарушает корреляцию уровней АДМА и артериального давления. Наконец, уровень диметиларгининов может меняться в зависимости от применяемых лекарств. Отметим, однако, что ожидавшейся зависимости от статинов и некоторых других медикаментов не обнаружено.

Существенный вклад в информацию о дестабилизирующих факторах анализа диметиларгининов могут внести опубликованные недавно результаты тщательно проведенного исследования *in vitro* [39]. Установлено, что около 95% от общего количества АДМА (свободного и связанного с белком) цельной крови содержится в эритроцитах. Показана возможность выхода АДМА в плазму. Важная роль NO в модуляции кислородсвязывающих свойств гемоглобина описана В.В. Зинчуком [40]. Однако роль диметиларгининов как регуляторов синтеза NO в эритроцитах в работе не рассматривалась. Таким образом, технология обработки и хранения образцов крови также может существенно влиять на результаты измерения.

Анализ литературы [27] позволил поставить прямой вопрос: являются ли диметиларгинины предикторами или маркерами эндотелиальной дисфункции и связанных с ней патологий? Формальные критерии признания какого-либо процесса биомаркером были представлены Манолио [41]. С нашей точки зрения сегодня есть позиции, препятствующие такому признанию диметиларгининов. Так, сегодня трудно говорить о полной воспроизводимости методов определения. Чувствительность и специфичность определения также должны улучшаться. Наконец, стоимость анализа и трудность про-

ведения делают его доступным лишь исследовательским лабораториям. Отметим, что перечисленные выше трудности преодолимы. А появление нового независимого предиктора или высоковероятного фактора риска представляется чрезвычайно привлекательной основой для дальнейшей работы.

ENDOGENOUS REGULATION OF NITRIC OXIDE BIOAVAILABILITY. CLINICAL CORRELATES AND ANALYTICAL APPROACHES

M.A. Gilinsky, E.Yu. Brusentsev

Two ways of regulation of nitrogen oxide bioavailability, really existing in an organism are considered in the review. The first consists in competitive inhibition of NO synthase by asymmetric dimethylarginine. The second way is the restriction of L-arginine transport as a substrate for NO synthase through a cell membrane. This way is realized by means of symmetric dimethylarginine. Data about association of increased dimethylarginines concentration with a development of endothelial dysfunction and related cardiovascular pathologies are demonstrated. The perspective of practical use of dimethylarginines as independent markers of cardiovascular events is discussed. The possible reasons of data discrepancy from various research groups concerning dimethylarginines are analyzed.

Литература

1. Кардиология. – 2002. – № 4. – С.58-67.
2. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система / Х.М. Марков // Успехи физиол. наук. – 2001. – Т. 32. – № 3. – С.49-65.
3. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков и др. М., 2006. – 556 с.
4. Уразаев А.Х. Физиологическая роль оксида азота / А.Х. Уразаев, А.Л. Зефилов // Успехи физиол. наук. – 1999. – Т. 30. – № 1. – С. 54-72.
5. Li X.A. Nitric oxide, caveolae, and vascular pathology / X.A. Li, W. Everson, E.J. Smart // Cardiovasc. Toxicol. – 2006. – Vol. 6. – № 1. – P.1-13.
6. Cooke J.P. Asymmetrical Dimethylarginine The Uber Marker? / J.P. Cooke // Circulation. – 2004. – Vol. 109. – P.1813-1819.
7. 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 / R.H. Boger // Nutrition. – 2004. – Vol. 134. – P. 2842S-2847S.
8. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction-its role in hypercholesterolemia / R.H. Boger, S.M. Bode-Boger, A. Szuba, et al. // Circulation. – 1998. – Vol. 98. – № 18. – P.1842-1847.
9. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is ele-

vated in monkeys with hyperhomocysteinemia or hypercholesterolemia / R.H. Boger, S.M. Bode-Boger, K. Sydow, et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2000b. – Vol. 20. – P.1557-1564.

10. Boger R.H. L-Arginine Improves Vascular Function by Overcoming the Deleterious Effects of ADMA, a Novel Cardiovascular Risk Factor / R.H. Boger, E.S. Ron // Altern. Med. Rev. – 2005. – Vol. 10. – № 1. – P. 14-23.

11. Kielstein J.T. Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor and a uremic toxin coming of age? / J.T. Kielstein, C. Zoccali // Am. J. Kidney Dis. – 2005. – Vol. 46. – № 2. – P.186-202.

12. Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a cardiovascular risk factor in end-state renal disease (ESRD) / C. Zoccali, F. Malamaci, G. Tripepi // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2006. – Vol. 62. – Suppl. 13. – P. 131-135.

13. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure / P. Vallance, A. Leone, A. Calver, et al. // Lancet. – 1992. – Vol. 339. – № 8793. – P.572-575.

14. Fliser D. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): the silent transition from an "uraemic toxin" to a global cardiovascular risk molecule / D. Fliser // Eur. J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 35. – P. 71-79.

15. Leiper J.M. The synthesis and metabolism of asymmetric dimethylarginine (ADMA) / J.M. Leiper, P. Vallance // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2006. – Vol. 62. – Suppl. 13. – P.33-38.

16. PRMT: A new protein arginine methyltransferase that synthesizes symmetric dimethylarginine / J.H. Lee, J.R. Cook, Z.H. Yang, et al. // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – № 5. – P. 3656-3664.

17. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox / D. Tsikas, R.H. Boger, J. Sandmann, et al. // FEBS Letters. – 2000. – Vol. 478. – P.1-3.

18. Kielstein J.T. Effects of asymmetric dimethylarginine (ADMA) infusion in humans / J.T. Kielstein, D. Tsikas, D. Fliser // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2006. – Vol. 62. – Suppl. 13. – P. 39-44.

19. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes / R.H. Boger, S.M. Bode-Boger, P.S. Tsao, et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2000a. – Vol. 36. – P. 2287-2295.

20. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis / H. Miyazaki, H. Matsuoka, J.P. Cooke, et al. // Circulation. – 1999. – Vol. 99. – №. 9. – P.1141-1146.

21. Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents / C.D. Goonasekera, D.D. Rees, P. Woolard, et al. // J. Hypertens. – 1997. – Vol. 15. – № 8. – P. 901-909.

22. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus / F. Abbasi, T. Asagmi, J.P. Cooke, et al. // Am. J. Cardiol. – 2001. – Vol. 88. – P.1201-1203.

23. Vallance P. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway / P. Vallance, J. Leiper // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2004. – Vol. 24. – № 6. – P.1023-1030.

24. Endothelin stimulates an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine, in experimental heart failure / M. Ohnishi, A. Wada, T. Tsutamoto, et al. // Clin. Sci. (Lond). – 2002. – Vol. 103. – Suppl. 48. – P. 241S-244S.

25. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary in-

- tervention / T.M. Lu, Y.A. Ding, S.J. Lin, et al. // *Eur. Heart J.* – 2003. – Vol. 24. – № 21. – P. 1912-1919.
26. Lenzen H. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and the risk for coronary heart disease: the multicenter CARDIAC study / H. Lenzen, D. Tsikas, R.H. Boger // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 62. – Suppl. 13. – P.45-49.
27. Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a cardiovascular and renal risk factor on the move / C. Zoccali // *J. Hypertens.* – 2006. – Vol. 24. – № 4. – P. 611-619.
28. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease / J.T. Kielstein, R.H. Boger, S.M. Bode-Boger, et al. // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 1999. – Vol. 10. – № 3. – P. 594-600.
29. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study / C. Zoccali, S.M. Bode-Boger, F. Mallamaci, et al. // *Lancet.* – 2001. – Vol.358. – P.2113-2117.
30. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality / R.J. Nijveldt, T. Teerlink, B. van der Hoven, et al. // *Clin. Nutr.* – 2003. – Vol. 22. – P. 23-30.
31. Inhibition of L-arginine transport in platelets by asymmetric dimethylarginine and N-monomethyl-L-arginine: effects of arterial hypertension / T.M. Brunini, M.B. Moss, M. Siqueira, et al. // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2004. – Vol. 31. – № 10. – P. 738-740.
32. Symmetrical Dimethylarginine: A New Combined Parameter for Renal Function and Extent of Coronary Artery Disease / S.M. Bode-Boger, F. Scalera, J.T. Kielstein, et al. // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2006. – Vol. 17. – №. 4. – P.1128-1134.
33. Asymmetrical (ADMA) and symmetrical dimethylarginine (SDMA) as potential risk factors for cardiovascular and renal outcome in chronic kidney disease-possible candidates for paradoxical epidemiology? / M. Busch, C. Fleck, G. Wolf, G. Stein // *Amino Acids.* – 2006. – Vol. 30. – № 3. – P.225-232.
34. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography / T. Teerlink, R.J. Nijveldt, S. de Jong, P.A. van Leeuwen // *Anal. Biochem.* – 2002. – Vol. 303. – P. 131-137.
35. Martens-Lobenhoffer J. Measurement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in human plasma: from liquid chromatography estimation to liquid chromatography-mass spectrometry quantification / J. Martens-Lobenhoffer, S.M. Bode-Boger // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 62. – Suppl. 13 – P. 61-68.
36. Полиморфизм генов ангиотензин-превращающего фермента и эндотелиальной синтазы окиси азота у лиц с артериальной гипертензией, гипертрофией левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией / В.А. Степанов, К.В. Пузырев, М.Г. Спиридонова и др. // *Генетика.* – 1998. – Т. 34. – № 11. – С.1578-1581.
37. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA), nitrate and the indices of low-density lipoprotein oxidation / H. Paiva, J. Laakso, I. Ruukonen, et al. // *Clin. Chim. Acta.* – 2006. – Vol. 371. – № 1-2. – P.97-101.
38. Dietary composition as a determinant of plasma asymmetric dimethylarginine in subjects with mild hypercholesterolemia / H. Paiva, T. Lehtimäki, J. Laakso, et al. // *Metabolism.* – 2004. – Vol. 53. – № 8. – P.1072-1075.
39. Contribution of Whole Blood to the Control of Plasma Asymmetrical Dimethylarginine / S.S. Billecke, L.A. Kitzmiller, J.J. Northrup, et al. // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2006. – Vol. 291. – P. 1788-1796.
40. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина / В.В. Зинчук // *Успехи физиол. наук.* – 2003. – Т. 34. – № 2. – С. 33-45.
41. Manolio T. Novel risk markers and clinical practice / T. Manolio // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 349. – P. 1587-1589.