

Sıçan sepsis modelinde asimetrik dimetilargininin rolü

İbrahim UYGUN *, Mustafa DENİZ **, Özlem UNAY DEMİREL ***, Halil TUĞTEPE ****,
Serdar Hilmi İSKİT *****, Türkan YURDUN *****, Serpil BİLSEL *****, Tolga Emrullah DAĞLI ****

*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı ve Çocuk Ürolojisi Bilim Dalı, Diyarbakır, **Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, ***Özel Medical Park Göztepe Hastanesi, Biyokimya Bölümü, İstanbul, ****Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı ve Çocuk Ürolojisi Bilim Dalı, İstanbul, *****Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Adana, ****Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul, ****Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Amaç: Asimetrik dimetilarginin (ADMA), endojen, kuvvetli bir nitrik oksit sentaz enzimi inhibitörüdür ve nitrik oksit (NO) sentezinde anahtar bir düzenleyicidir. Çoklu organ yetmezliği sendromlu (ÇOYS) hastalarda plazma ADMA düzeyinin yükseldiği ve kötü prognozun bir göstergesi olduğu bildirilmiştir. ADMA-enflamasyon ilişkisini açıklamaya çalışan kısıtlı sayıdaki yeni çalışmalarda ise, ÇOYS'un daha önceki safhalarından biri olan sepsiste plazma ADMA düzeyinin artıp azalması ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Bu deneysel çalışmada sıçanlarda, sepsisin hiperdinamik normotansif erken dönemi modeli oluşturularak plazma ADMA ve L-arginin (L-Arg) düzeylerinin ölçülmesi ve sepsiste ADMA ve L-Arg'in rolünün açıklanması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada iki grup (n=8) oluşturularak 16 genç erkek Sprague-Dawley türü sıçan kullanıldı. Sepsis grubunda çekum bağlanması ve delinmesi modeli ile sepsis oluşturuldu ve 24. saatte hemodinamik ve biyokimyasal ölçümler ile yüksek basınçlı sıvı kromatografisi metodu ile plazma ADMA ve L-Arg ölçümü yapılarak sham grubu ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Sepsis grubundaki tüm sıçanlarda ağır peritonit ve hiperdinamik normotansif erken sepsis safhası gelişti. Ölçülen hemodinamik, biyokimyasal ve hematolojik bulguları arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Plazma ADMA düzeyleri, sham grubunda (n=6) 5,33 mikromolar, sepsis grubunda (n=7) 10,24 mikromolar olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (p<0.05). Ayrıca, sepsis grubundaki sıçanların plazma ADMA düzeyleri ile ortalama arter basıncı arasında pozitif bir korelasyon saptandı (r=0.77, p<0.05). Sepsis grubundaki sıçanların plazma L-Arg düzeyleri ve L-Arg/ADMA oranlarında sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı.

Sonuç: Hiperdinamik normotansif erken sepsis döneminde plazma ADMA düzeyi yükselmektedir ve ADMA, ileride sepsisin erken döneminin bir biyogöstergesi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Asimetrik dimetilarginin, sepsis, sıçan

Summary

The role of asymmetrical dimethylarginine in the rat sepsis model

Aim: Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) is a potent endogenous inhibitor of nitric oxide (NO) synthase enzymes and a physiological modulator of NO biosynthesis. In this article elevation of plasma ADMA levels in critically ill patients with multiple organ dysfunction syndrome (MODS) which is an independent risk factor in intensive care unit mortality has been emphasized. In a few recent studies attempting to explain relationship between ADMA-inflammation, conflicting results have been reported about increasing or decreasing plasma ADMA levels in sepsis which is an earlier stage of MODS. We aimed to investigate the role of ADMA and L-arginine (L-Arg) during the earlier hyperdynamic, and normotensive stage of sepsis in the rat sepsis model.

Material and Methods: Male Sprague-Dawley rats were grouped as sham (n=8) and sepsis (n=8). Sepsis was induced by the cecal ligation and perforation model. Twenty four hours after the induction of sepsis, rats were monitored and their hemodynamic parameters were measured. Then rats were sacrificed and samples were taken for measurements of biochemistry parameters and plasma levels of ADMA and L-Arg. ADMA and L-Arg were measured simultaneously by high-performance liquid chromatography.

Results: In all of rats of the sepsis group, severe peritonitis and hyperdynamic normotensive early sepsis were induced. Median plasma ADMA concentration was 5.33 µM in the sham (n=6), whereas in the sepsis group (n=7) it was significantly higher (10.24 µM) (p<0.05) and in addition, between mean arterial blood pressure and plasma ADMA levels in the septic rats a positive correlation was demonstrated (r=0.77, p<0.05). Other measurements were not significant between two groups.

Conclusion: In the hyperdynamic normotensive early sepsis, plasma ADMA levels are elevated. Plasma ADMA concentration may be used as a predictive marker in early sepsis in the future.

Key words: Asymmetrical dimethylarginine, sepsis, rat

*22. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi'nde (8-11 Eylül 2004, Bursa) ve 18. Ulusal Biyokimya Kongresi'nde (15-19 Mayıs 2004, Trabzon) poster olarak sunulmuştur.

Adres: Yrd. Doç. Dr. İbrahim Uygun, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Sur-21280-Diyarbakır

Alındığı tarih: 11.04.2012

Kabul tarihi: 11.09.2012

Giriş

Çocuk cerrahisi pratiğinde cerrahi sonrası sepsis, özellikle yenidoğan cerrahisi yoğun bakım ünitelerinde

de (YBÜ) en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinin başında gelmektedir ^(2,3,16,41). Sepsis, infeksiyon varlığında organizmada gelişen bir sistemik enflamatuvar yanıt sendromudur ⁽¹⁶⁾. Başlıca görevi damar tonusunun ayarlanması olan bir endojen mediyatör ve serbest radikal nitrik oksit (NO), sepsiste aşırı üretilmekte ve septik şokta görülen vazodilatasyon ve inatçı hipotansiyondan sorumlu tutulmaktadır ^(4,14,29,33,34,36,40). Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi inhibitörlerinin keşfi, septik şokta gelişen tedaviye yanıtız inatçı hipotansiyonu düzeltmede yararlı olabileceği düşüncesini uyandırmıştır ⁽³³⁾. Ancak, NOS inhibisyonunun, şokta hemodinamik bozukluklarda iyileşme olduğunu bildiren araştırmalara karşılık, bu ilaçların etkisiz, hatta oluşan tabloyu vazokonstriksiyon sonucu organ ve doku perfüzyonunu bozarak daha da kötüleştirdiğini bildiren yayınlar da bulunmaktadır ^(35,37).

Asimetrik dimetilarginin (ADMA), endojen, kuvvetli bir NOS enzimi inhibitörüdür ve NO sentezinde anahar düzenleyicidir ^(9,12,14,29,43). ADMA, bir arginin anoloğu olmasına karşın serbest argininin metilasyonundan sentezlenmeyip proteinlerin hidrolizi yoluyla vücutta bazal olarak sentezlenmektedir. L-arginin (L-Arg) ise, temel bir yarı esansiyel aminoasittir. ADMA, NO ve L-Arg ile denge halindedir. ADMA'nın herhangi bir nedenle plazma düzeyinin yükselmesi, kuvvetli NOS inhibisyonuna yol açarak NO'nun fizyolojik yararlı etkilerini ortadan kaldırır ve sonuçta da, vazokonstriksiyona bağlı olarak doku perfüzyonunun bozulmasına ve organ disfonksiyonunun gelişmesine neden olabilir ^(1,6-8,13,14,28-31). Plazma ADMA düzeyinin yüksekliği, kronik endotelial disfonksiyon ve artmış kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilidir ^(5,6,42,45,46).

Plazma ADMA düzeyinin çoklu organ yetmezliği sendromlu (ÇOYS) kritik YBÜ hastalarında yükseldiği ve kötü prognozun bir göstergesi olduğu gösterilmiştir ⁽³⁰⁾. ADMA-enflamasyon ilişkisini açıklamaya çalışan kısıtlı sayıdaki yeni çalışmalarda, ÇOYS'un önceki safhalarından sepsis, ADMA, L-Arg ve L-Arg/ADMA oranının artıp azalması ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir ^(1,15,29-32,44).

Bu deneysel çalışmamızda sıçanlarda, sepsisin hiperdinamik normotansif erken dönemi modeli oluşturarak plazma ADMA ve L-Arg düzeylerinin ölçülmesi ve sepsiste ADMA ve L-Arg'in rolünün açıklanması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmamız, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Etik Kurulu tarafından 19/03/2003-12.2003mar tarih ve sayısı ile onaylanmıştır.

Çalışmada 212-285 g ağırlığında 16 genç erkek (ortalama 2,5 aylık) Sprague-Dawley türü sıçan kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan sıçanlar sepsis oluşturulup oluşturulmadığına göre iki gruba ayrılmıştır. Sham grubunda (n=8) sepsis oluşturulmayıp, sepsis grubunda (n=8) ise, Wichterman ve ark. tarafından tarif edilen çekum bağlanması ve delinmesi (ÇBD) modeli ile sepsis oluşturularak hiperdinamik normotansif erken sepsis dönemi olarak kabul edilen 24. saatte deney tamamlanmıştır ⁽²⁵⁾.

Tüm gruplardaki sıçanlar cerrahi işlemden bir gece önce aç bırakılmış, cerrahi işlem sonrasındaki 24 saat için ise yalnızca sıvı alımına izin verilmiştir. Deneysel süresince ışık düzeni 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ayarlanmıştır. İlk cerrahi işlemde steriliteye, ikincisinde ise temiz çalışılmaya özen gösterilmiştir. Tüm cerrahi işlemler normal oda ısısında, ısıyı ayarlanabilir ısı yatağı üzerinde yapılmış olup, sıçanın rektal vücut ısısı termometre (Microlife, Trimpeks Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) ile sürekli ölçülmüş ve 36°C dolaylarında tutulmuştur. İlk cerrahi işlemde tüm sıçanların deneysel hazırlık işlemleri aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. İntraperitoneal yolla 10 mg/100 g dozda ketamin (Ketalar Flakon, Parke-Davis-Eczacıbaşı İlaç A.Ş., İstanbul, Türkiye) ve 0,37 mg/100 g dozda klorpromazin (Largactil Ampul, Eczacıbaşı İlaç A.Ş., İstanbul, Türkiye) verilerek anestezi sağlanmış, karın tüylerinin traşlanması ve % 10'luk povidon iyot (Batticon, Adeka İlaç A.Ş., İstanbul, Türkiye) ile cerrahi bölgenin boyanmasını takiben uygun pozisyon verilerek sıçanlar ısı yatağına alınmıştır.

Grup I: Sham Grubu: Bu gruptaki sıçanlara anestezinin ardından orta hat alt batın 2 cm'lik kesi ile laparotomi yapılarak çekumları hassas penset ile bulunup batın dışına çekildi. Daha sonra hiçbir işlem yapılmadan yine batın içine dikkatlice konuldu. Batın, kaslar ve cild ayrı olmak üzere 2 kat 4/0 ipek sütür materyali ile devamlı olarak kapatıldı. İşlem sonrası dehidratasyonu önleme amacıyla sırt derileri altına 3

ml/100 g dozda steril serum fizyolojik enjektörde edildi. Sıcak bir ortamda sıçanların uyanmaları sağlandı ve cerrahi işlemden sonra ilk 24 saat sadece sıvı alımına izin verildi.

Grup II: Sepsis Grubu: Bu gruba ÇBD modeli uygulandı. Yine aynı şekilde laparatomiyi takiben çekum dışarı alınarak intestinal devamlılığı bozmadan terminal ileumun hemen altından 4/0 ipek ile bağlandı. Ardından 18 G iğne ucu ile antimezenterik yüzden çekum duvarına ardışık üç adet ponksiyon yapıldı, bir miktar feçes çıkacak şekilde nazikçe sıkıldı. Sonra çekum yine batına itilip batın yine aynı şekilde kapatıldı. Tüm sıçanlar 24. saatte aşağıda anlatıldığı gibi deney tamamlandıktan sonra abdominal aortanın kesilmesi yolu ile sakrifiye edildi.

Sıçanların sistemik enflamatuvar yanıt sendromu, sepsis, ağır sepsis, septik şok ve ÇOYS açısından hangi tablo içinde olduğunun ortaya konulması, çalışmanın optimum şartlarda yapıldığının sınanması ve iki grup arasında oluşan farkların karşılaştırılması amacı ile, 24. saatte, intraperitoneal değişiklikler Horn ve ark.'nın tariflediği makroskopik peritonit derecelendirilmesi (Tablo 1) ile değerlendirilerek bazı hemodinamik (ortalama arter basıncı (OAB), sistolik arter basıncı (SAB), diyastolik arter basıncı (DAB), kalp tepe atımı (KTA), solunum sayısı (SS), superior mezenterik arter (SMA) kan akımı ve damar direnci), hematolojik (kan sayımı, kan gazı analizi) ve biyokimyasal (C-reaktif protein (CRP), karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri) parametreler ölçüldü⁽¹⁹⁾. Ayrıca, plazma ADMA ve L-Arg düzeylerinin ve L-Arg/ADMA oranlarının sepsisteki değişimini ve rolünü ortaya koymak için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) metodu ile plazma ADMA ve L-Arg düzeylerine bakıldı⁽³⁹⁾.

Tablo 1. Peritonitin makroskopik derecelendirilmesi.

	Periton Rengi	Periton Sıvısı	Yapışıklıklar
Hafif	Gri	Seröz mayi	yok
Orta	Hiperemi, ödem	Pürülan eksüda	yok
Ağır	Kirli, mat	Abse oluşumu	Fibröz yapışıklıklar

Deney günü, kan basıncı ve kan akımını en az etkilediği bilinen ve baroreseptör ve onları modüle eden reflekslerde çok az değişikliğe neden olduğu için kardiyovasküler sistem çalışmalarında oldukça tercih edilen üretan (1,25 g/kg, i.p.) anestezisi ile uyutulan sıçanlar ısı yatağına yatırıldı. Vücut ısısı kontrolü

sağlanmasını takiben devamlı açık bir hava yolu sağlamak amacıyla küçük bir polietilen tüp parçası (PE-240, Fisher, Scientific, Springfield, NY, USA) kanül ile trakeostomi açıldı. Kan basıncı ölçümü ve kan örneği alımı için sağ karotid arter kanülasyonu polietilen PE-50 kateter ile yapılarak Nihon Kohden marka basınçölçer algılayıcı ve yazıcıya bağlandı.

Çalışma boyunca kayıp ve idame sıvı-elektrolit infüzyonu için ise sağ internal juguler ven kanülasyonu yine aynı şekilde polietilen PE-50 kateter ile yapıldı ve 2 ml/saat hızda % 5 dekstrozu ringer laktat solüsyonu mikroenjektör ile infüze edilmeye başlandı. Daha sonra laparotomiye geçildi. Makroskopik peritonit derecelendirmesini takiben SMA'ya ulaşıldı ve dikkatlice dönüldü. SMA'nın izole edilmesini takiben 1 mm çapındaki 1RB akım probu (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) damar çevresine yerleştirildi. SMA kan akımı ultrasonik transit geçiş metodu ile ölçüldü. Meydana gelen ultrasonik sinyallerin ölçümünden sonra probun yerleştirildiği yerden birim zamanda geçen net kan hacmi, akım ölçer cihaz (Small Animal Flowmeter System T106, Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) vasıtasıyla devamlı ölçüldü. Kan akımı değerlerinin ölçümü sırasında SAB ve DAB yerleştirilen sağ karotid arter kataterinden eşzamanlı ve sürekli olarak, Nihon Kohden kayıt aracı kullanılarak (model AP-621G) mm'lik sürekli forma kaydedildi. Sıçan 30 dk. stabilize olana kadar kontrol ölçümü yapıldı. Takiben temel ölçüme geçildi ve 30 dk. daha ölçüm yapıldı. Bu işlemler sırasında sıçanın batını ısı ve sıvı kaybını en aza indirmek için sıcak serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlı bez ve şeffaf streç film ile örtüldü. Ölçüm işlemi bittikten sonra sağ karotid arter kanülünden heparin ile flaşlanmış enjektör ile 3 ml kan alındı. Alınan kan örneği hemen hemogram sayımı için 0,5 ml'lik micro hemogram tüpüne, kan gazı ölçümü için kapiller kan gazı tüpüne, ADMA ve L-Arg analizi ile biyokimya ölçümü için kuru tüpe aktarıldı. ADMA ve L-Arg analizi ile biyokimya kan örneği +4 C°'de 3.000 devir/dk. hızda 10 dk. santrifüj edildi. Oluşan plazmanın 0,2 ml'si pipet ile biyokimya parametreleri çalışılmak üzere +4 C°'de hemen laboratuvara götürülmek üzere ayrılırken geriye kalan kısmı da daha sonra YBSK ölçümü yapılmak üzere ayrılarak 70 C°'de derin dondurucuya konuldu. Kan gazı, biyokimya ve hemogram kan örneği +4 C°'de hemen biyokimya laboratuvarına ulaştırılarak çalışıldı.

Daha sonra sakrifiye edilen sıçanların distalde terminal ileumdan proksimalde pilora kadar tüm ince bağırsaklar eksize edilip çevre dokulardan tamamen temizlendi ve fizyolojik tuzlu su ile yıkandı. Kurutma kâğıdı ile kurutulmasını takiben hassas terazide tartılıp dokuların yaş ağırlıkları g cinsinden belirtildi. Ultrasonik akımölçerden elde edilen değerler (ml/dk.) daha sonra 100 g total ince bağırsak dokusu başına ml/dk/100g olarak normalize edildi. SMA damar direnci (mmHg/ml/dk/100 g doku), OAB'nin $[(SAB+2 \times DAB)/3]$, SMA kan akımına bölünmesi ile hesaplandı. KTA ise oluşan traselerden sayılarak hesaplandı. Makroskopik peritonit derecelendirmesi Tablo 1'e göre yapıldı.

Derin dondurucuda (-70°C) saklanan plazma örnekleri oda ısısında çözündürüldükten sonra 0,5 ml'si daha önceden 10 ml su ve 10 ml metanol ile koşullandırılmış katı faz ekstraksiyon kolonuna (SPE, benzen sülfonik asit, 100 mg/ml, No.7090-01, J.T. Baker) uygulandı. % 50 amonyak/metanol karışımı ile elüsyon yapıldıktan sonra 80°C'de azot akımı altında elüsyon çözücüsü kuruluğa kadar uçuruldu. Kuru artık 0,5 ml distile su ile vortekste karıştırılarak çözüldü ve 10 ml su, 10 ml metanol ile koşullandırılmış karboksilik asit katı faz ekstraksiyon kolonuna (SPE, karboksil azur, 100 mg/ml, No.7211-01, J.T. Baker) uygulandı. Elüsyon % 10 amonyak/metanol karışım ile yapıldı ve çözücüsü 80°C'de azot akımı altında kuruluğa kadar uçuruldu. Kuru artık 50 µL distile su ile vortekste karıştırılarak çözüldü. 10 µL ekstre çözeltisi 90 µL OPA (o-fitalaldehid) çözeltisi (5 mg OPA tartıldı, üzerine 0,25 ml metanol, 1 ml borat tampon çözeltisi -2.4 g/100 ml olacak şekilde borik asit tartıldı ve pellet potasyum hidroksit ile pH 10'a ayarlandı-, 15 µL 2-merkaptotanol eklenerek karıştırıldı) ile vortekste 30 sn karıştırılıp 3 dk. bekletilerek türevlendirme işlemi yapıldı. OPA türevleri stabil olmadığından daha fazla bekletilmeden 3 dk. içinde YBSK cihazına 5 veya 10 µL hacimlerde enjekte edildi. Analizde kullanılan cihaz Waters Corporation (USA) marka olup, 600 multisolvent delivery pompa, 200 µL looplu Rheodyne 7725 enjektör, M 420-AC floresan detektör, data station (Unicam Ltd, UK) ve C18 Symmetry kolon 5 µm, 4.6x150 mm (Part No: WAT 054210) içermektedir.

Çalışma koşulları ise şöyledi: Çözücü sistemi A: sodyum asetat/metanol/THF (tetrahidrofuran) (82:17:1),

B: sodyum asetat/metanol/THF (22:77:1) 35 dk. % 85, 10 dk. % 70, 3 dk. % 0 A şeklinde gradient olarak uygulandı. Detektör dalga boyu ex:338 nm, em:455 nm, çözücü akış hızı 0,7 ml/dk ve kâğıt yürütme hızı 0,5 cm/dk. şeklinde cihaz çalıştırıldı. Hesaplamalar standart L-Arg ve ADMA kromatogramlarının yardımıyla yapıldı ve µM (mikromolar=mmol/L) olarak belirtildi⁽³⁹⁾. YBSK cihazında kullanılan saf su Milli-Q RG su sisteminden sağlandı. Kimyasal maddeler de Sigma kalitesinde idi.

Sepsis ve sham grubunun hemodinamik, biyokimyasal, hematolojik ve plazma ADMA, L-Arg verilerinin istatistiksel karşılaştırmalarında non-parametrik Mann-Witney U testi, sepsis grubunun OAB ile plazma ADMA düzeyi korelesyon karşılaştırmalarında ise non-parametrik Spearman Korelesyon testi kullanıldı. p değerinin 0.05'ten düşük olması anlamlı olarak kabul edildi. Hesaplamalar "Instat 2" bilgisayar programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Her iki gruptaki sıçanlar 24. saatte değerlendirildiğinde sepsis grubundan bir sıçanın ölmüş olduğu görüldü. Sham grubundan ise iki sıçan ikinci cerrahi işlem sırasında SMA kanamasına bağlı olarak kaybedildi. Çalışmamız, sepsis grubu (n=7), sham grubu (n=6) olacak şekilde tamamlandı.

Tüm sıçanlarımız ikinci cerrahi işlem boyunca trakeostomi sayesinde devamlı açık bir hava yolu ile normal oda havasını spontan olarak soludu ve kardiyak arrest gelişmedi. Her iki deney grubundaki sıçanların ölçülen ortalama hemodinamik değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Sepsis grubunda sham grubuna kıyasla SS % 13, KTA % 33, OAB % 27, SAB % 11, DAB % 43, SMA kan akımı % 13, SMA damar direnci ise % 18 yüksek bulundu. Ancak, bu yükselmeler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Her iki gruptaki sıçanlar 24. saatte dışarıdan genel olarak değerlendirildiğinde, sham grubundaki sıçanların genel durumlarının iyi olduğu, buna karşılık sepsis grubundaki sıçanların tümünde laterji, batın sertliği ve batın distansiyonunu geliştirdiği ve bir kısmında da göz ve burunlarında eksudatif krut oluştuğu görüldü. İkinci cerrahi işlem için tüm sıçanların batınları açılıp makroskopik olarak değerlendirildiğinde, sham

Tablo 2. Her iki gruptaki sıçanların ortalama hemodinamik değerleri.

	Birim	Sham	Sepsis	Değişim (%)
SS	(solunum/dk)	81 (±7)	92 (±13)	(+%13)
KTA Sayısı	(atım/dk)	311 (±48)	414 (±73)	(+%33)
OAB	(mmHg)	77.4 (±16)	98.6 (±16)	(+%27)
SAB	(mmHg)	114.9 (±19)	127.7 (±11)	(+%11)
DAB	(mmHg)	58.6 (±17)	84.1 (±23)	(+%43)
SMA Kan Akımı	(100 g/mL/dk)	47.51 (±6.4)	53.84 (±11.9)	(+%13)
SMA Direnci	(mmHg/mL/dk/100 g)	1.66 (±0.5)	1.96 (±0.7)	(+%18)

SS; solunum sayısı/dk, KTA; kalp tepe atımı/dk, OAB; ortalama arter basıncı, SAB; sistolik arter basıncı, DAB; diyastolik arter basıncı, SMA; superior mezenterik arter.

Tablo 3. Her iki gruptaki sıçanların ortalama biyokimyasal ve hematolojik değerleri.

	Birim	Sham	Sepsis
Üre	(mg/dL)	32.5 (±6.6)	41.7 (±8.5)
BUN	(mg/dL)	15.3 (±2.7)	19.3 (±4.0)
Kreatinin	(mg/dL)	0.47 (±0.11)	0.3 (±0.1)
AST (SGOT)	(U/L)	487 (±125)	353 (±117)
ALT (SGPT)	(U/L)	202 (±85)	158 (±34)
Total Bilirubin	(mg/dL)	0.12 (±0.05)	0.11 (±0.05)
CRP	(mg/L)(N=0-5)	84 (±23)	64 (±15)
Lökosit Sayısı	(hücre/mm ³)	9500 (±1600)	10000 (±2700)
Trombosit Sayısı	(hücre/mm ³)×1000	806 (±138)	666 (±123)
Hemoglobin	(g/dL)	18.3 (±1.0)	17.6 (±1.3)
Hematokrit	(%)	53 (±3)	51 (±4)
pH	(arteriyel)	7.36 (±0.07)	7.39 (±0.04)
PaO ₂	(mmHg)	93.5 (±9.5)	87 (±8.7)
PaCO ₂	(mmHg)	37 (±15)	36 (±9.6)
HCO ₃	(mmol/L)	20 (±5.1)	21 (±4.1)
BE (Baz Fazlası)	(mmol/L)	-5 (±2.8)	-3.4 (±2.5)
SaO ₂	(%)	97 (±1.4)	96 (±1.1)

Tablo 4. Sıçanların ortalama plazma ADMA ve L-Arg düzeyleri ile L-Arg/ADMA oranı.

	Sham	Sepsis	Değişim %
ADMA (µM)	5.33 (±1.64)	10.24 (±3.22) †*	(~×2)
L-Arg (µM)	34.09 (±14.16)	42.25 (±17.25)	(+%23)
L-Arg/ADMA	7.28 (±4.97)	4.73 (±2.60)	(-%35)

† p<0.05; sham grubuna göre kıyasla anlamlı.

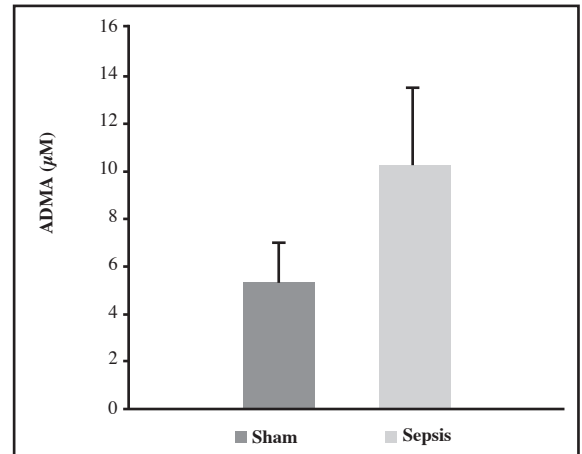
* p<0.05; sepsis grubunun OAB ve ADMA değerleri arasında pozitif korelasyon
OAB, ortalama arter basıncı.

grubundaki sıçanlarda intraperitoneal bir patolojiye rastlanmadığı halde, sepsis grubundaki sıçanların tümünde kirli-mat periton rengi, sıvı dolu distandı bağırsaklar, nekrotik çekum, pürülan asit, özellikle çekum çevresinde yaygın yapışıklıklar ve yer yer abse odakları saptandı. Saptanan intraperitoneal bulgular makroskopik peritonit derecelendirmesine göre değerlendirildiğinde sham grubundaki sıçanlarda hiç peritonit gözlemlenmez iken, sepsis grubundaki sıçanların tümünde ağır peritonit tablosu gelişmiştir.

Her iki gruptaki sıçanların ortalama biyokimyasal ve hematolojik değerleri Tablo 3'te özetlenmiştir. Karaciğer enzimleri, her iki grupta da normal değerlerin üzerinde bulundu. Total bilirubin değerleri ise, her iki grupta da normal sınırlar içerisinde idi. Ölçülen böbrek fonksiyon testleri de her iki grup için normal sınırlar içerisinde idi. CRP, sham grubunda daha yüksek olmak üzere her iki grupta da normal değerlerin (N=0-5 mg/L) çok üzerinde idi. Gruplar arasında bazı biyokimyasal farklar olmasına karşın bu farklar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bulunmadı.

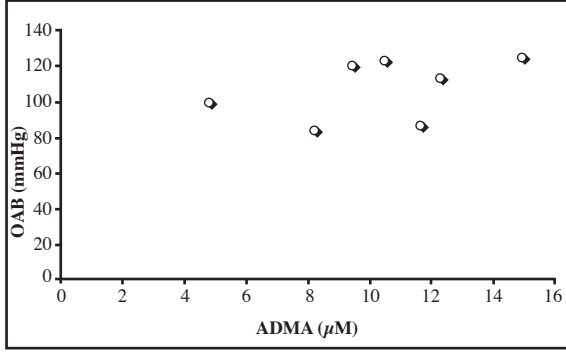
Her iki grupta ölçülen ortalama hemogram ve arteriyel kan gazı değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 3).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile ölçülen ortalama plazma ADMA düzeyleri, sham grubunda 5,33 µM (mikromolar=mmol/L), sepsis grubunda 10,24 µM olarak ölçüldü (Tablo 4). Sepsis grubunun plazma



Şekil 1. Sham ve sepsis grupları arasındaki plazma ADMA düzeylerinin karşılaştırılması. Plazma ADMA düzeyi sham grubu için 5.33 (±1.64) µM iken, bu düzey sepsis grubu için 10.24 (±3.22) µM düzeyinde ölçülmüş olup yaklaşık iki katıdır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

ADMA düzeyleri sham grubuna göre yaklaşık iki kat artmış bulundu ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Şekil 1). Ayrıca, sepsis grubundaki sıçanların plazma ADMA düzeyleri ile OAB'leri arasında pozitif bir korelasyon saptandı ($r=0.77$, $p<0.05$) (Şekil 2).



Şekil 2. Sepsis grubundaki sıçanların plazma ADMA düzeyleri ile OAB (ortalama arter basıncı) değerleri arasında anlamlı derecede korelasyon bulundu (Spearman korelasyon testi, $r=0.77$, $p<0.05$).

Plazma L-Arg düzeyleri, sham grubunda 34,09 µM, sepsis grubunda 42,25 µM olarak ölçüldü. L-Arg/ADMA oranı ise sham grubunda 7,28, sepsis grubunda 4,73 olarak hesaplandı (Tablo 4). İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın, sepsis grubunda L-Arg düzeyleri sham grubuna göre ortalama % 23 artmış, L-Arg/ADMA oranı ise plazma ADMA düzeyindeki artış ile ters orantılı olarak % 35 azalmış bulundu.

Tartışma

Endojen L-Arg analogu olarak NOS enziminin yarışmacı, seçici olmayan kuvvetli bir inhibitörü ve NO sentezinde önemli bir düzenleyici olan ADMA, sadece endotel disfonksiyonunun yeni bir biyogöstergesi değil aynı zamanda da yeni bir potansiyel kardiyovasküler risk faktörü olarak kabul edilmektedir (9,12,14,28,29,43). Bunun yanında ADMA'nın, hiperkolesterolemi, hipertrigliseritemi, hiperhomosistinemi, hipertansiyon, diyabetes mellitus, insülin rezistansı, kronik kalp yetmezliği, hipertiroidi, hemorajik şok, preeklampitik gebelik ve ÇOYS'ta yükseldiği gösterilmiştir (9,14,22,26,28-30).

Nijveldt ve ark. (30) tarafından plazma ADMA düzeyinin ÇOYS'lu kritik YBÜ hastalarında arttığı bildirilmiştir. ÇOYS'lu hastalarda plazma ADMA düzeyinin

temel belirleyicisinin karaciğer yetmezliğinin varlığı olduğu, bu yüzden normal karaciğer fonksiyonlarının ADMA düzeyini kontrol ettiği, plazma ADMA düzeyinin yükselmesi ile yetişkin YBÜ ölüm hızı riskinin 17 kat arttığı, sonuç olarak ADMA'nın kuvvetli bir biyogösterge olduğu da belirtilmektedir (30). Ayrıca ÇOYS'ta ADMA'nın yükselmesinin nedeninin, artmış protein yıkımına bağlı olarak ADMA'nın üretiminin artmasının yanında, özellikle karaciğerde metabolize edilerek atılımının azalması olduğu ileri sürülmektedir (29). ADMA'nın ÇOYS'ta yükseldiği ve kötü prognoz olduğu gösterilmesine karşın, çalışmamızda ÇOYS'tan daha önceki safhalardan olan sepsisin hiperdinamik normotansif erken döneminde de plazma ADMA düzeyinin yükseldiğinin gösterilmesi önem arz etmektedir. Bu bize, ADMA'nın erken sepsis döneminin bir biyogöstergesi olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda sepsis grubundaki sıçanların plazma ADMA düzeyleri ile OAB'leri arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır ($r=0.77$, $p<0.05$) (Şekil 2). Gebelerin plazma ADMA düzeyleri trimester arttıkça anlamlı derecede yükselir. Bu yükselme arteriyel kan basıncının yükselmesi ile koreledir. Gebeliğe preeklampsinin komplike olmasıyla bu yükseklik daha da belirginleşmekte ve hipertansiyon ile orantılı olarak artmaktadır. Bu veriler NO ve ADMA'nın, hem normal hem de preeklampitik gebeliklerdeki kan basıncı değişikliklerinde önemli bir rolü olduğunu desteklemektedir (24,38). Ayrıca hipertansiyonlu çocuklarda plazma ADMA düzeyi yüksek bulunmuş ve ADMA'nın çocuk yaş grubundaki hipertansiyonun patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (18). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da, plazma ADMA düzeylerinin septik sıçanlarda yüksek olduğu ve bu yüksekliğin sistemik arter basıncı ile korele olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, ADMA'nın, damar tonusunda anlamlı değişikliklere (NO inhibisyonuna bağlı vazokonstriksiyon vb.) yol açıp sistemik arter basıncının yükselmesinde önemli bir rol oynarken, diğer yandan da doku ve organ perfüzyonunu bozarak organ yetmezliği gelişmesine neden olabileceği ve bu yüzden belki de ÇOYS'a doğru kötü sürecin erken bir biyogöstergesi ve hatta nedeni olabileceği düşüncesini desteklemektedir (18,30,31,38).

Çeşitli araştırmalarda plazma ADMA düzeyinin yükselmesinin nedeni, karaciğer ve/veya böbrek yetmez-

liğine bağlanmıştır (29,43,46). Plazma ADMA düzeyinin karaciğer disfonksiyonu ile büyük ölçüde etkilendiği, ADMA'yı yıkan enzim olan Dimetilarginin dimetilamino hidrolaz (DDAH)'ın primer olarak karaciğerde bulunduğu ve bu yüzden karaciğerin ADMA'nın yıkıldığı primer organ olduğu ileri sürülmektedir (29-31). KBY'de plazma ADMA düzeyi yüksek bulunmuş ve bunun nedeninin ADMA'nın üriner atılımının bozulduğuna bağlı olduğu ileri sürülmüştür (43).

Sepsis grubundaki hiperdinamik normotansif erken sepsis dönemindeki sıçanlarımızda henüz karaciğer ve böbrek yetmezliği gelişmemiştir (Tablo 3). Buna karşın, plazma ADMA düzeyi anlamlı bir şekilde artmıştır. Sepsisteki bu ADMA birikiminin nedeni hem artmış olan protein yıkımına hem de azalmış eliminasyon yollarına bağlı olabilir (21,29).

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi metodu ile ölçtüğümüz diğer parametre olan plazma L-Arg düzeyleri, sham grubunda ortalama 34.09 µM, sepsis grubunda ortalama 42.25 µM olarak ölçüldü. Ancak, aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. L-Arg temel bir yarı esansiyel aminoasittir. Günümüzde L-Arg'in birçok farklı metabolik yola katıldığı bilinmektedir. Bu metabolik yollardan belki de en önemlisi L-Arg-NO yoludur (7). NO sentezini artırarak endotel kaynaklı vazodilatasyonu geliştiren L-Arg'in dışarıdan ek olarak verilmesi, araştırmacılar tarafından büyük oranda uygun bulunmaktadır. Dışarıdan L-Arg'in verilmesinin, yara iyileşmesini hızlandırdığı, ameliyat sonrası baskılanmış makrofaj fonksiyonlarını ve lenfosit yanıtınlığını tekrar kazandırdığı ve enfeksiyonlara karşı direnci arttırdığı gösterilmiştir (17). Septik çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada, septik çocukların vücutlarında NO sentez hızının arttığı ve sağlıklı yetişkinler ile karşılaştırıldığında plazma L-Arg'in NO ve üre şekline çevriminin de arttığı gösterilmiştir. Ayrıca bu bulguların yarı esansiyel bir aminoasit olan L-Arg'in sepsisli kritik çocuk hastalarda kesinlikle vazgeçilmez bir aminoasit olduğu kuvvetli bir şekilde vurgulanmaktadır (1). Çalışmamızda septik sıçanlarda plazma L-Arg düzeyleri, sham grubuna göre % 23 yüksek bulunmuştur. Sepsiste, yarı esansiyel bir aminoasit olan L-Arg'in, bir yandan NO ve üre başta olmak üzere çeşitli metabolik yollara katılarak tüketiminin artması sonucu plazmadaki düzeyinin azalmasına karşılık artmış bir proteolizis sonucu üretiminin de artması da söz ko-

nusu olabilir (1,21). Akut enflamatuvar yanıt sırasında plazma aminoasit dönüşümünün yüksek olduğu gösterilmiştir (11,20,23,27). Bu yüksek plazma aminoasit dönüşümü endojen mediyatörler tarafından uyarılan enflamatuvar ve hipermetabolik durum ile açıklanabilir (10). Vücut protein yıkımının artması sonucu endojen aminoasitlerin plazmaya geçişi artar (1). Sepsiste TNF-α gibi sitokinler tarafından başlatılan artmış protein yıkımı sonucu CRP gibi akut faz proteinlerinin, ADMA'nın ve diğer mediyatörlerin salınımının artmasına neden olduğu gibi, L-Arg salınımını da artırabilir (1). L-Arg'in üretimi bir yandan artarken, diğer yandan da tüketilmesi L-Arg'in plazma düzeyinde stabil olmayan değişikliklere neden olabilir (1,7). Şöyle ki, bir yandan dışarıdan alınan gıda ve ilaçlar ile ve proteolizis ile proteinden indirgenerek L-Arg düzeyi artarken, bir yandan da L-Arg'in katıldığı birçok metabolik yol ile parçalanması sonucu azalabilmektedir (1).

Yüksek plazma ADMA düzeyleri ile artmış kardiyovasküler morbidite ve mortalite arasındaki güçlü korelasyonu gösteren klinik çalışmalarla birlikte, L-Arg/ADMA oranının da endotel fonksiyonun iyi bir belirteci ve bundan dolayı kardiyovasküler risk faktörü olabileceğini ileri süren yayımlar da vardır (5,6,42,45,46). Sepsis şokta plazma ADMA düzeyi ve L-Arg/ADMA oranı ile ilgili çok az sayıda çalışmada birbiri ile çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (15,32,44). O'Dwyer ve ark. (32) yetişkin sepsis ve organ disfonksiyonlu hastalarda yüksek plazma ADMA düzeyinin artmış mortalite riski ile ilişkili olduğu bulmalarına karşın Weiss ve ark. (44) sepsisli çocuk hastalarda plazma ADMA düzeyinin azaldığını bildirmiştir. Bu deneysel çalışmamızda ise, hiperdinamik normotansif erken sepsis döneminde plazma ADMA düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olarak yaklaşık iki kat arttığı, L-Arg/ADMA oranının ise istatistiksel olarak anlamlı olmakla birlikte % 35 azaldığı bulunmuştur. Şüphesiz, sepsis grubundaki plazma ADMA düzeylerinin yaklaşık iki kat artması, L-Arg/ADMA oranının düşmesine neden olmuştur. Ancak, diğer taraftan L-Arg'in de bir miktar artması L-Arg/ADMA oranındaki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı bulunmasına engel olmuştur. Sepsis bir kaostur (16). Bu kaotik durumda, birçok sentez ve metabolizma yoluna katılan L-Arg'in plazma düzeyi değişkenlik gösterebilir (1). Bu da bize, sepsiste L-Arg/ADMA oranından ziyade plazma ADMA düzeyinin önemini ortaya çıkarmaktadır.

Bu deneysel çalışmamız, hiperdinamik normotansif erken sepsis döneminde plazma ADMA düzeyi yükseldiğini ve ileride ADMA'nın sepsisin erken döneminin bir biyogöstergesi olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Ancak, ADMA-sepsis ilişkisini sepsisin erken ve geç dönemlerinde araştıran ileri klinik ve deneysel çalışmalara gereksinim vardır.

Teşekkür: Yazarlar bu çalışmaya maddi destek sunan Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi ve Ekin Kimya Tic. Ltd. Şti.'ye teşekkürlerini sunar.

Kaynaklar

1. Argaman Z, Young VR, Noviski N, et al: Arginine and nitric oxide metabolism in critically ill septic pediatric patients. *Crit Care Med* 31: 591, 2003
<http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000050291.37714.74>
PMid:12576971
2. Belet N, Küçüködüç Ş, Sezer T, et al: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi yenidoğan ünitesinde izlenen nazokomiyal sepsis olguları. *Türk Pediatri Arşivi* 35: 256, 2000
3. Bhattacharyya N, Kosloske AM, Macarthur C: Nosocomial infection in pediatric surgical patients: a study of 608 infants and children. *J Pediatr Surg* 28: 338, 1993
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-3468\(93\)90228-D](http://dx.doi.org/10.1016/0022-3468(93)90228-D)
4. Birman H: Nitrik oksitin fizyolojik rolleri. *Sendrom* 104: 8, 1999
5. Bode-Böger SM, Böger RH, Kienke S, et al: Elevated L-arginine /dimethylarginine ratio may be a better index for the relative substrate availability of the NO-synthase as the L-arginine or ADMA concentration alone. *BBRC* 219: 598, 1996
PMid:8605033
6. Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, et al: Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Am Coll Cardiol* 32: 1336, 1998
[http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(98\)00375-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(98)00375-1)
7. Böger RH, Bode-Böger SM: The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41: 79, 2001
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.41.1.79>
PMid:11264451
8. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, et al: Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 98: 1842, 1998
<http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.98.18.1842>
PMid:9799202
9. Böger RH, Vallance P, Cooke JP: Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a key regulator of nitric oxide synthase. *Atheroscler* 4: 1, 2003
[http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5688\(03\)00027-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5688(03)00027-8)
10. Carcillo JA, Cunnion RE: Septic shock. *Crit Care Clin* 13: 553, 1997
[http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0704\(05\)70328-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0704(05)70328-6)
11. Castillo I, Yu YM, Marchini S, et al: Phenylalanine and tyrosine kinetics in critically ill children with sepsis. *Pediatr Res* 35: 580, 1994
<http://dx.doi.org/10.1203/00006450-199405000-00009>
12. Cooke JP: NO and angiogenesis. *Atheroscler* 4: 53, 2003
[http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5688\(03\)00034-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1567-5688(03)00034-5)
13. Cooke JP, Andon NA, Gierd XJ, et al: Arginine restores cholinergic relaxation of hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. *Circulation* 83: 1057, 1991
<http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.83.3.1057>
PMid:1999009
14. Cooke JP: Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 2032, 2000
<http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.20.9.2032>
PMid:10978245
15. Davis JS, Darcy CJ, Yeo TW, et al: Asymmetric dimethylarginine, endothelial nitric oxide bioavailability and mortality in sepsis. *PLoS One* 6: e17260, 2011
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0017260>
PMid:21364995 PMCID:3041798
16. Despond O, Proulx F, Carcillo JA, et al: Pediatric sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Curr Opin Pediatr* 13: 247, 2001
<http://dx.doi.org/10.1097/00008480-200106000-00006>
PMid:11389359
17. Furchgott RF: The discovery of endothelium-derived relaxing factor and its importance in the identification of nitric oxide. *J Amer Med Assoc* 276: 1186, 1996
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.1996.03540140074032>
PMid:8827976
18. Goonasekera CDA, Rees DD, Woolard P, et al: Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertension* 15: 901, 1997
<http://dx.doi.org/10.1097/00004872-199715080-00015>
PMid:9280214
19. Horn RC Jr, Fine G: Alimentary tract. In: Anderson WAD, Kissane JM (eds) Pathology, Chapter 30, vol. 2, 7th edn. Mosby, Missouri, pp.1277, 1977
20. Jahoor F, Desai M, Herndon DN, et al: Dynamics of protein metabolism response to burn injury. *Metabolism* 37: 330, 1988
[http://dx.doi.org/10.1016/0026-0495\(88\)90132-1](http://dx.doi.org/10.1016/0026-0495(88)90132-1)
21. Leiper J, Vallance P: Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 43: 542, 1999
[http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6363\(99\)00162-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00162-5)
22. Lundman P, Eriksson MJ, Stuhlinger M, et al: Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol* 38: 111, 2001
[http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01318-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01318-3)
23. Lyons J, Rauh-Pfeiffer A, Ming-Yu Y, et al: Cysteine metabolism and whole blood glutathione synthesis in septic pediatric patients. *Crit Care Med* 29: 870, 2001
<http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200104000-00036>
PMid:11373484
24. Maeda T, Yoshimura T, Okamura H: Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, in maternal and fetal circulation. *J Soc Gynecol Investig* 10: 2, 2003
[http://dx.doi.org/10.1016/S1071-5576\(02\)00192-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1071-5576(02)00192-2)
25. Martin CM, Yaghi A, Sibbald WJ, et al: Differential impairment of vascular reactivity of small pulmonary and systemic arteries in hyperdynamic sepsis. *Am Rev Resp Dis* 148: 164, 1993

- PMid:8317793
26. Matsuoka H, Itoh S, Kimoto M, et al: Asymmetrical dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in experimental hypertension. *Hypertension* 29: 242, 1997
<http://dx.doi.org/10.1161/01.HYP.29.1.242>
PMid:9039109
 27. Ming Y-Y, Ryan CM, Castillo L, et al: Arginine and ornithine kinetics in severely burned patients: Increased rates of arginine disposal. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280: E509, 2001
 28. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, et al: Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 99: 1141, 1999
<http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.99.9.1141>
PMid:10069780
 29. Nijveldt RJ, Teerlink T, Vanleeuwen PAM: The asymmetrical dimethylarginine (ADMA)-multiple organ failure hypothesis. *Clin Nutr* 22: 99, 2003
<http://dx.doi.org/10.1054/clnu.2002.0614>
PMid:12553957
 30. Nijveldt RJ, Teerlink T, van der Hoven B, et al: Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr* 22: 23, 2003
<http://dx.doi.org/10.1054/clnu.2002.0613>
PMid:12553946
 31. Nijveldt RJ, Teerlink T, Siroen MPC, et al: The liver is an important organ in the metabolism of asymmetrical dimethylarginine (ADMA). *Clin Nutr* 22: 17, 2003
<http://dx.doi.org/10.1054/clnu.2002.0612>
PMid:12553945
 32. O'Dwyer MJ, Dempsey F, Crowley V, et al: Septic shock is correlated with asymmetrical dimethyl arginine levels, which may be influenced by a polymorphism in the dimethylarginine dimethylaminohydrolase II gene: a prospective observational study. *Crit Care* 10: R139, 2006
<http://dx.doi.org/10.1186/cc5053>
PMid:17002794 PMCid:1751072
 33. Özek M, Üresin Y, Güngör M: Deneysel endotomsevide nitrik oksit sentaz inhibitörlerinin etkileri. *İst Tıp Fak Mecmuası* 64: 4, 2001
 34. Özel ŞK: Sıçan özefagusunda kostik hasarda serbest oksijen metabolitleri, nitrik oksit ve endotelin. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2001.
 35. Park JH, Chang SH, Lee KM, et al: Protective effect of nitric oxide in an endotoxin-induced septic shock. *Am J Surg* 171: 340, 1996
[http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610\(97\)89638-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9610(97)89638-9)
 36. Parratt JR: Nitric oxide in sepsis and endotoxaemia. *J Antimicrob Chemother* 41: 31, 1998
http://dx.doi.org/10.1093/jac/41.suppl_1.31
PMid:9511084
 37. Petros A, Lamb G, Leone A, et al: Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock. *Cardiovasc Res* 28: 34, 1994
<http://dx.doi.org/10.1093/cvr/28.1.34>
PMid:7509259
 38. Pettersson A, Hedner T, Milsom I: Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 77: 808, 1998
<http://dx.doi.org/10.1080/j.1600-0412.1998.770805.x>
PMid:9776593
 39. Teerlink T, Nijveldt RJ, de Jong S, et al: Determination of arginine, asymmetrical dimethylarginine, and symmetrical dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 303: 131, 2002
<http://dx.doi.org/10.1006/abio.2001.5575>
PMid:11950212
 40. Titheradge MA: Nitric oxide in septic shock. *Biochim Biophys Acta* 1411: 437, 1999
[http://dx.doi.org/10.1016/S0005-2728\(99\)00031-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0005-2728(99)00031-6)
 41. Tuğtepe H, Uygun İ, Özel K, et al: Yenidoğan cerrahi yoğun bakım ünitesinde cerrahi sonrası sepsis ve risk faktörleri. *Pediyatrik Cerrahi Dergisi* 6: 22, 2002
 42. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, et al: Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 358: 2127, 2001
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)07184-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)07184-7)
 43. Vallance P, Leone A, Calver A, et al: Accumulation of an endogenous inhibitor of NO synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339: 572, 1992
[http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)90865-Z](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(92)90865-Z)
 44. Weiss SL, Haymond S, Ranaivo HR, et al: Evaluation of asymmetrical dimethylarginine, arginine, and carnitine metabolism in pediatric sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 13(4): 210, 2012
<http://dx.doi.org/10.1097/PCC.0b013e318238b5cd>
PMid:22460770
 45. Yoo JH, Lee SC: Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetrical dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 158: 425, 2001
[http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150\(01\)00444-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150(01)00444-0)
 46. Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, et al: Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 358: 2113, 2001
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)07217-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)07217-8)