

VU Research Portal

The clinical significance of asymmetric dimethylarginine

Siroen, M.P.C.

2007

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Siroen, M. P. C. (2007). *The clinical significance of asymmetric dimethylarginine*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

SAMENVATTING

In ons lichaam wordt het aminozuur arginine gebruikt voor de vorming van stikstofmonoxide (NO). Dit gebeurt door het enzym NO synthase welke een aantal isovormen kent, te weten een neurogene, endotheliale en een induceerbare vorm. Aan arginine verwante stoffen spelen een belangrijke regulerende rol in het arginine-NO systeem. Asymmetrisch dimethylarginine (ADMA) is in staat om NO synthase direct te remmen¹ terwijl symmetrisch dimethylarginine (SDMA) alleen een indirect remmende werking heeft op dit enzym doordat het een competitieve antagonist is van arginine met betrekking tot transport van deze stoffen over de celmembraan via de γ^+ -transporter.²⁻⁵

In het hart- en vaatstelsel zorgt NO voor vasodilatatie. Daarnaast remt het de trombocytenuitstrooming en gaat het de proliferatie van glad spierweefsel tegen. Tevens remt NO adhesie van leucocyten aan het endotheel en vermindert het de vorming van het radicaal superoxide. Ook remt NO de oxidatie van low-density lipoproteïnen. NO wordt dan ook beschouwd als een anti-atherosclerotisch molecuul. Het remmen van de vorming van NO kan dus schadelijke gevolgen hebben voor het hart- en vaatstelsel en daarmee een belangrijke rol spelen bij het ontstaan van hart- en vaatziekten.⁶ ADMA oefent zijn schadelijke effecten uit door aselectieve remming van alle isovormen van NO synthase. Hierdoor kan er niet voldoende NO worden aangemaakt waardoor bovengenoemde functies van NO in het gedrang kunnen komen. Meerdere studies die gebruik hebben gemaakt van multivariate logistische regressie waarbij alle traditionele, maar ook nieuwe potentiële risicofactoren worden geanalyseerd, hebben reeds aangetoond dat ADMA een nieuwe en sterke risicofactor is voor het ontstaan van hart- en vaatziekten. In de toekomst zullen ADMA spiegels waarschijnlijk gemeten gaan worden bij patiënten die een verhoogd risico lopen op het krijgen van hart- en vaatziekten. Helaas is dit nu nog niet realiseerbaar zowel omdat ADMA spiegels teveel variëren tussen diverse patiëntenpopulaties maar ook omdat er nog geen standaard bepalingmethode is ontwikkeld waardoor de ADMA spiegels niet eenduidig zijn te interpreteren. In **Hoofdstuk 1** wordt een overzicht gegeven van het metabolisme van ADMA waarbij

met name wordt gefocust op de organen die betrokken zijn bij de afbraak en verwijdering van ADMA uit de systemische circulatie. Tevens wordt ingegaan op het klinische belang van ADMA bij diverse ziektebeelden.⁷

Diverse studies hebben aangetoond dat ADMA stijgt tijdens nierinsufficiëntie en ADMA wordt tevens verantwoordelijk gehouden voor het ontstaan van cardiovasculaire complicaties die ontstaan bij patiënten met nierfalen.⁸⁻¹³ Naast uitscheiding van ADMA door de nier wordt ADMA ook afgebroken door het enzym dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH).¹⁴ De ontdekking van DDAH als regulator van de systemische ADMA spiegel biedt nieuwe perspectieven en benadrukt dat, naast de nier, andere organen ook betrokken kunnen zijn bij het metabolisme van ADMA. Carnegie¹⁵ heeft de potentiële rol van de lever in het metabolisme van ADMA ontdekt; bij patiënten met chronische actieve hepatitis was er sprake van een afgenomen verhouding in de uitscheiding van SDMA ten opzichte van ADMA in de urine ten gevolge van een toename van de ADMA excretie. Echter, omdat alleen concentraties in de urine waren gemeten, kon er geen uitspraak worden gedaan over het exacte metabolisme van de lever. Om het metabolisme van de lever beter in kaart te brengen, is er een dierexperimentele studie gedaan waarin arterioveneuze concentratieverschillen over de lever en nier en de bloedstroom door beide organen met behulp van radioactieve microsferen werd gemeten. Deze combinatie van bepalingen maakt het mogelijk om orgaanfluxen en fractionele extracties van de lever en de nier te berekenen. Uit deze studie kwam naar voren dat de lever een aanzienlijke hoeveelheid ADMA aan de circulatie onttrekt.¹⁶ Wanneer deze bevindingen werden omgerekend naar de dagelijkse hoeveelheid hepatische ADMA-extractie bleek dat er 700 keer de hoeveelheid circulerend ADMA werd onttrokken. Tevens toonde deze studie aan dat SDMA nagenoeg ongemoeid werd gelaten door de lever. Waarschijnlijk wordt dit verschil in klaring door de lever verklaard door enzymatische afbraak van ADMA door DDAH. Omdat de rol van de humane lever in het metabolisme van dimethylarginines nog niet gedetailleerd is bestudeerd, werd een studie gedaan bij patiënten die een partiële leverresectie moesten ondergaan. Dit onderzoek wordt beschreven in **Hoofdstuk 2**.¹⁷ Tijdens de leverresectie die deze patiënten ondergingen, werd bloed afgenomen uit een arteriële lijn, de vena porta, de vena hepatica en de vena renalis. Tevens werd perioperatief met behulp van duplex de bloedstroom gemeten in de arteria hepatica,

de vena porta en de vena renalis. Op deze manier kon de bijdrage van de lever en nier in het metabolisme van ADMA en SDMA afzonderlijk worden berekend. Uit de resultaten kwam naar voren dat zowel de lever (mediaan: 9,6 nmol/min (IQR: 5,6-13,2) als de nier 12,1 nmol/min (1,3-17,1) een groot deel van ADMA aan de circulatie onttrokken. SDMA bleek niet alleen opgenomen te worden door de nier (12,7 nmol/min (3,5-25,4)). De lever (7,7 nmol/min (2,8-16,4)) onttrok ook SDMA aan de portosystemische circulatie. Deze studie bracht de bijdrage van de humane lever en nier aan de klaring van dimethylarginines voor het eerst gedetailleerd in kaart en toonde tevens aan dat SDMA ook door de lever wordt opgenomen.

Indien, zoals in bovenbeschreven studies beschreven, de lever een belangrijke rol speelt bij de klaring van ADMA, kunnen verhoogde ADMA spiegels aanwezig zijn bij patiënten met leverfalen die vervolgens dalen na een succesvolle levertransplantatie. Deze hypothese wordt getoetst in **Hoofdstuk 3** waarin het beloop van de ADMA concentratie bij patiënten met acuut en chronisch leverfalen die een levertransplantatie ondergingen wordt bestudeerd.¹⁸ De preoperatieve ADMA concentratie was hoger bij patiënten met acuut (1,26 μM , $p < 0,001$) en met chronisch (0,69 μM , $p < 0,001$) leverfalen dan bij gezonde vrijwilligers (0,41 μM). De ADMA spiegel toonde een significante daling tussen de preoperatieve en de eerste postoperatieve dag na de levertransplantatie bij zowel de patiënten met acuut (Δ_{ADMA} : -0,63 μM , $p = 0,005$) als de patiënten met chronisch (Δ_{ADMA} : -0,15 μM , $p < 0,001$) leverfalen. Bij patiënten die een acute afstotingsreactie doormaakten, waren de ADMA spiegels gedurende de gehele postoperatieve maand hoger ($p = 0,012$) dan bij degenen die een ongecompliceerd beloop hadden doorgemaakt. Daarnaast werd bij 85% van de patiënten die een afstotingsreactie toonden een evidente toename gezien van de ADMA concentratie voorafgaand aan de eerste afstotingsepisode welke was bevestigd middels leverbiopsie. Uit deze studie kon geconcludeerd worden dat het levertransplantaat snel in staat is om ADMA te klaren; waarschijnlijk ten gevolge van preservatie van DDAH. Daarnaast toonde dit onderzoek aan dat een stijging van de ADMA concentratie in het postoperatieve beloop na een levertransplantatie ernstige dysfunctie van het transplantaat ten gevolge van een acute afstotingsreactie weerspiegelt. In de toekomst zal het verband tussen histologische uitslagen van het leverbiopt en laboratoriumuitslagen die in relatie

staan tot de leverfunctie aan moeten tonen of ADMA gebruikt kan worden als diagnostische marker van een acute afstotingsreactie tegen het levertransplantaat.

Bij patiënten met levercirrhose zijn verhoogde spiegels van zowel ADMA als NO beschreven. Er wordt dan ook gedacht dat ADMA de systemische vasodilatatie, die optreedt ten gevolge van abundante NO productie ten tijde van levercirrhose, kan antagoneren. In **Hoofdstuk 4** wordt de rol van dimethylarginines bij patiënten met levercirrhose in kaart gebracht. Voor dit onderzoek werden 25 patiënten met portale hypertensie ten gevolge van levercirrhose die in aanmerking kwamen voor het krijgen van een transjugulaire intrahepatische portosystemische shunt (TIPS) bestudeerd. Tijdens en 3 maanden na het plaatsen van de TIPS werd bloed afgenomen uit de vena cava superior, de vena hepatica en de vena porta. De arginine/ADMA ratio steeg significant na het plaatsen van een TIPS. Daarnaast verbeterde de nierfunctie en daalde de SDMA spiegel na TIPS plaatsing. De leverfunctie bleef onveranderd evenals de ADMA spiegel. Uit deze studie werd geconcludeerd dat een stijging van de arginine/ADMA ratio ten gevolge van de TIPS zou kunnen leiden tot een toename van de intracellulaire beschikbaarheid van NO. Daarnaast bevestigt deze studie de belangrijke rol van de lever in het klaren van ADMA en lijkt het dat de DDAH activiteit niet verandert na TIPS plaatsing. Het is voor de toekomst interessant om middels lever- en nierbiopten informatie te verkrijgen over de DDAH activiteit en intracellulaire (dimethyl)arginine spiegels teneinde de pathofysiologie van levercirrhose beter in kaart te kunnen brengen.

Naast de klinische relevantie van ADMA bij ziektebeelden waarbij de nier- en leverfunctie is aangetast, is ook gebleken dat ADMA een voorspellende waarde heeft voor mortaliteit op de Intensive Care (IC).¹⁹ Er is zelfs gesuggereerd dat ADMA betrokken is bij het ontstaan van multi-orgaanfalen.²⁰ Aspecifieke remming van NO synthase door ADMA kan leiden tot een afname van de belangrijke fysiologische acties van NO en dientengevolge bijdragen aan de cascade die betrokken is bij het ontstaan van orgaanfalen dat uiteindelijk fatale gevolgen kan hebben voor ernstig zieke IC patiënten. Belangrijke processen in deze cascade zijn een verminderde orgaanperfusie, een verminderde cardiac output, cardiale ischemie, capillair lek, thrombocytenaggregatie, een verminderde klaring door de nier, pulmonale hypertensie en een toename van adherentie van leucocyten aan het endotheel.

Het is bekend dat metabole ondersteuning bij deze patiëntenpopulatie van wezenlijk belang is en het is aangetoond dat strikte glucoseregulatie bij ernstig zieke IC patiënten leidt tot een lagere morbiditeit en mortaliteit.²² Het onderliggend mechanisme hiervan is echter nog niet volledig opgehelderd. In **Hoofdstuk 5** wordt onderzocht of deze gunstige effecten verklaard kunnen worden door een invloed van insuline op de ADMA spiegel. Bij 79 patiënten die op de IC waren opgenomen na een gecompliceerd beloop na long- of oesofagusresecties, langer dan 7 dagen op de IC lagen en gerandomiseerd waren voor strikte danwel conventionele glucoseregulatie, werden ADMA spiegels bepaald op de dag van opname, na 2 dagen, na 7 dagen en op de dag voor ontslag of overlijden. Uit deze studie bleek dat de ADMA spiegel gedurende de eerste 2 dagen na opname op de IC significant steeg bij patiënten bij wie de glucosespiegel volgens het conventionele regime werd gereguleerd terwijl de ADMA spiegel onveranderd bleef bij de patiënten die intensief werden behandeld met insuline. Bovendien was de ADMA spiegel aan het einde van het IC verblijf (dag voor ontslag of dag voor overlijden) significant lager bij de intensief behandelde groep ten opzichte van de conventioneel behandelde groep. Tevens was er een negatieve relatie tussen de gemiddelde dagelijkse hoeveelheid insuline en de ADMA spiegel op de laatste IC dag. Een andere belangrijke bevinding was de significant hogere ADMA spiegel bij patiënten die kwamen te overlijden in vergelijking met patiënten die van de IC werden ontslagen. Dit verschil was onafhankelijk van het glucose regime waarmee de verschillende patiënten waren behandeld. Tevens bleek ADMA gerelateerd te zijn aan diverse outcome parameters zoals verblijfsduur op de IC, beademingsduur, behandelingsduur met inotropica en vasopressoren, aantal bloedtransfusies, behandelingsduur met antibiotica, aanwezigheid van critical illness polyneuropathie, gemiddelde APACHE II score en cumulatieve TISS-28 score. Het beloop van ADMA gedurende het IC verblijf bleek een onafhankelijke voorspeller van IC mortaliteit te zijn. Uit deze studie kon dus geconcludeerd worden dat de ADMA spiegel beïnvloed wordt door insuline. Het mechanisme hiervan zal waarschijnlijk uit meerdere factoren zijn opgebouwd, te weten: preservatie van DDAH, minder eiwitafbraak en dus minder ADMA productie en een toename van transport van ADMA in organen die ADMA aan de circulatie onttrekken. Toekomstige studies die de ADMA spiegel omlaag brengen door middel van bijvoorbeeld selectieve hemodialyse of stimulatie van DDAH zullen moeten

bevestigen dat ADMA gerelateerd is aan de diverse outcome parameters bij ernstig zieke IC patiënten.

NO, dat wordt geproduceerd door het endotheel, speelt een belangrijke rol bij de fysiologische adaptatie tijdens de zwangerschap. Het is derhalve aannemelijk dat ADMA, als endogene remmer van NO synthese, betrokken is bij het ontstaan van preëclampsie. Studies die deze relatie hebben onderzocht, laten tegenstrijdige resultaten zien. Hoewel er is gesuggereerd dat een verminderde werking van het ADMA afbrekende enzym DDAH tijdens placentainsufficiëntie de initiator zou kunnen zijn van preëclampsie, is de activiteit van DDAH in de placenta nog nooit eerder gemeten. Ook de rol van de placenta in het metabolisme van ADMA heeft totnogtoe nauwelijks aandacht gekregen. Deze rol is bij gezonde zwangere vrouwen en bij patiënten met preëclampsie in **Hoofdstuk 6** onderzocht.²³ Voor deze studie werden 27 gezonde en niet-zwangere vrouwen, 15 normotensieve zwangere vrouwen, 16 patiënten met preëclampsie en 7 patiënten met het 'hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets' (HELLP) syndroom bestudeerd. Uit dit onderzoek kwam naar voren dat de DDAH activiteit in de placenta niet was toegenomen bij patiënten met preëclampsie en deze studie liet tevens zien dat de ADMA spiegel tijdens preëclampsie niet verhoogd was in vergelijking met normotensieve zwangere vrouwen en niet-zwangere vrouwen. Daarnaast toonde deze studie dat tijdens het HELLP syndroom, waarbij orgaanfalen van met name de lever en de nier op de voorgrond staat, de ADMA spiegel significant hoger was dan tijdens preëclampsie en tijdens een normale zwangerschap. Om een causaal verband aan te tonen tussen ADMA en het ontstaan van preëclampsie zal een prospectieve studie, waarbij het beloop van ADMA in een grote groep zwangere vrouwen wordt onderzocht, verricht moeten worden.

CONCLUSIES

NO werd in 1992 bekroond tot molecuul van het jaar.²⁴ In dit jaar werd tevens ontdekt dat ADMA een belangrijke rol speelt in het arginine-NO systeem door remming van

het enzym NO synthase.¹ Sindsdien is het onderzoek naar ADMA als regulator van NO productie in toenemende mate uitgebreid en tegenwoordig wordt ADMA zelfs gezien als een nieuwe cardiovasculaire risicofactor. De rol van de lever en de nier in het metabolisme van ADMA zijn reeds grondig bestudeerd en beide organen hebben dan ook bewezen een cruciale rol te spelen bij het klaren van ADMA. Hoewel de lever ADMA alleen kan verwijderen door afbraak via het enzym DDAH, is de nier naast deze enzymatische afbraak tevens in staat om ADMA via de urine uit te scheiden. De beïnvloeding van de DDAH activiteit en/of expressie wordt momenteel onderzocht en kan mogelijk in de nabije toekomst therapeutische waarde hebben om de ADMA spiegel te reduceren. Andere potentiële therapeutische opties zijn selectieve hemodialyse van ADMA al dan niet gecombineerd met toediening van arginine-verrijkte voeding teneinde de arginine/ADMA ratio en daarmee de hoeveelheid NO in postieve zin te beïnvloeden. Naast de rol van ADMA in het ontstaan van hart- en vaatziekten, lijkt ADMA ook een voorname speler te zijn bij diverse andere ziektebeelden zoals bijvoorbeeld leverfalen, 'critical illness' op de IC en preëclampsie. Onderzoek op het gebied van ADMA dient uitgebreid te worden teneinde het klinisch belang van ADMA bij deze en andere ziektebeelden te kunnen ontmaskeren.

Referenties

- 1 Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20 Suppl 12:S60-S62.
- 2 Bogle RG, MacAllister RJ, Whitley GS, Vallance P. Induction of NG-monomethyl-L-arginine uptake: a mechanism for differential inhibition of NO synthases? *Am J Physiol* 1995;269:C750-6.
- 3 Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992;339:572-5.
- 4 Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Forstermann U. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y^+ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide* 1997;1:65-73.
- 5 Tojo A, Welch WJ, Bremer V, Kimoto M, Kimura K, Omata M, Ogawa T, Vallance P, Wilcox CS. Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney. *Kidney Int* 1997;52:1593-601.
- 6 Böger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003;59:824-33.
- 7 Siroen MP, Teerlink T, Nijveldt RJ, Prins HA, Richir MC, van Leeuwen PA. The clinical significance of asymmetric dimethylarginine. *Annu Rev Nutr* 2006;26:203-28.
- 8 Fliser D, Kronenberg F, Kielstein JT, Morath C, Bode-Böger SM, Haller H, Ritz E. Asymmetric dimethylarginine and progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2456-61.
- 9 Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Schaffer J, Barbey M, Koch KM, Frölich JC. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:594-600.

- 10 Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Malatino LS, Zoccali C. Prognostic value of combined use of biomarkers of inflammation, endothelial dysfunction, and myocardial pathology in patients with ESRD. *Kidney Int* 2005;67:2330-7.
- 11 Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S, Mallamaci F, Zoccali C. Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2449-55.
- 12 Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich J, Böger R. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001;358:2113-7.
- 13 Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LS, Cataliotti A, Bellanuova I, Boger R. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;62:339-45.
- 14 Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1455-9.
- 15 Carnegie PR, Fellows FC, Symington GR. Urinary excretion of methylarginine in human disease. *Metabolism* 1977;26:531-7.
- 16 Nijveldt RJ, Teerlink T, Siroen MP, van Lambalgen AA, Rauwerda JA, van Leeuwen PA. The liver is an important organ in the metabolism of asymmetrical dimethylarginine (ADMA). *Clin Nutr* 2003;22:17-22.
- 17 Siroen MP, van der Sijp JR, Teerlink T, van Schaik C, Nijveldt RJ, van Leeuwen PA. The human liver clears both asymmetric and symmetric dimethylarginine. *Hepatology* 2005;41:559-65.
- 18 Siroen MP, Warlé MC, Teerlink T, Nijveldt RJ, Kuipers EJ, Metselaar HJ, Tilanus HW, Kuik DJ, van der Sijp JR, Meijer S, van der Hoven B, van Leeuwen PA. The transplanted liver graft is capable of clearing asymmetric dimethylarginine. *Liver Transpl* 2004;10:1524-30.
- 19 Nijveldt RJ, Teerlink T, van der Hoven B, Siroen MP, Kuik DJ, Rauwerda JA, van Leeuwen PA. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr* 2003;22:23-30.
- 20 Nijveldt RJ, Teerlink T, van Leeuwen PA. The asymmetrical dimethylarginine (ADMA)-multiple organ failure hypothesis. *Clin Nutr* 2003;22:99-104.
- 21 Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P, Bouillon R. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 2001;345:1359-67.
- 22 Siroen MP, van Leeuwen PA, Nijveldt RJ, Teerlink T, Wouters PJ, Van den Berghe G. Modulation of asymmetric dimethylarginine in critically ill patients receiving intensive insulin treatment: a possible explanation of reduced morbidity and mortality? *Crit Care Med* 2005;33:504-10.
- 23 Siroen MP, Teerlink T, Bolte AC, van Elburg RM, Richir MC, Nijveldt RJ, van der Hoven B, van Leeuwen PA. No compensatory upregulation of placental dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2006;62:7-13.
- 24 Koshland DE. The molecule of the year. *Science* 1992;258:1861.

