

## DENEYSEL İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE ASİMETRİK DİMETİL ARJİNİN SEVİYESİNİN FLEP YAŞAMI ÜZERİNDE TANI KOYDURUCU DEĞERİ

### DIAGNOSTIC VALUE OF ASYMMETRIC DI-METHYL ARGININE LEVEL FOR FLAP SURVIVAL IN EXPERIMENTAL ISCHEMIA REPERFUSION MODEL

Melike ORUÇ, MD;<sup>1</sup> Yüksel KANKAYA, MD;<sup>1</sup> Kadri ÖZER, MD;<sup>2</sup> Veynel Murat IŞIK, MD;<sup>1</sup> Özlem ÇOLAK, MD;<sup>3</sup> Koray GÜRSOY, MD;<sup>1</sup> Uğur KOÇER, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Aydın Devlet Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, Aydın, Türkiye

<sup>3</sup>Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, İstanbul, Türkiye

Geliş tarihi: 25/08/2016

Kabul tarihi: 07/10/2016

*Yazarlar herhangi bir finansal destek kullanmamış olup yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.*

#### ÖZ

**AMAÇ:** Endojen bir nitrik oksit sentetaz inhibitor molekülü olan 'asimetrik di-metil arjinin' (ADMA) konsantrasyonu belli spesifik durumlarda artmaktadır. ADMA'nın sistemik üretimi iskemi reperfüzyon hasarına uğramış hayvanlarda daha fazladır. Bunun yanında nitrik oksit ve nitric oksit sentetaz, deri fleplerinin sağ kalımında oldukça önemlidir. Bu çalışmanın amacı da artmış ADMA seviyesi ve deri flep yaşayabilirliği arasındaki muhtemel ilişkinin deneysel olarak incelenmesidir.

**GEREÇ VE YÖNTEMLER:** Çalışmada 26 adet erişkin Wistar sıçan kullanıldı. Grup 1'de abdominal flepler kaldırıldı ve tekrar yerine dikildi. Grup 2'de ise süperfişyal epigastrik damarlar bazlı abdominal aksiyel flepler eleve edildi ve sonrasında vasküler pedikül klemplenecek 8 saatlik sıcak iskemi periyodu oluşturuldu. Plazma ADMA seviyeleri preoperatif ve reperfüzyon sonrası 4. saatte ölçüldü.

**BULGULAR:** Grup 1 ve grup 2'de ortalama preoperatif ADMA seviyeleri 0,283 ve 0,301 olarak hesaplandı. Postoperatif ADMA seviyeleri ise sırasıyla 0,296 ve 0,471 ( $\mu\text{mol/l}$ ) olarak bulundu. Postoperatif 10.günde, ortalama flep nekroz alanı grup 1'de  $2.6\% \pm 3.0$  ve grup 2'de  $44.4\% \pm 10.7$  olarak hesaplandı. Preoperatif ADMA seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) fakat postoperatif ADMA seviyeleri grup 2'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ( $p<0.05$ ). Çalışma grubunda, ADMA konsantrasyonu ve flep yaşamı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlemlendi ( $p<0.05$ ).

**SONUÇ:** Bu bulgular, sıçan iskemi reperfüzyon flep modelinde plazma ADMA seviyeleri ile flep yaşamı arasında belirgin bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, ADMA'nın sistemik üretiminin deri fleplerinde oluşan reperfüzyon hasarının derecesiyle ilişkili olduğu düşünülebilir. ADMA seviyesinin düşürülmesi fleplerin veya kompozit transplantların iskemi reperfüzyon hasarını azaltmada faydalı olabilir. Bu nedenle, ADMA, flep veya transplantasyon cerrahisinde terapötik hedef olarak kullanılabilir önemli bir aday olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** İskemi reperfüzyon, flep, sağ kalım, asimetrik dimetil arjinin

**Yazışma adresi/Correspondence Address:** Dr. Melike ORUÇ, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği, Ankara, Türkiye

**Tel:** 0312 595 36 51 **e-mail:** droruc@yahoo.com

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** Nitric oxide is important for skin flap survival. Systemic production of endogenous nitric oxide synthase inhibitor molecule 'asymmetric di-methyl arginine' (ADMA) is greater in animals having ischemia reperfusion injury. Aim of this study was to evaluate possible correlation of elevated levels of ADMA with skin flap survival in an experimental model.

**MATERIAL AND METHODS:** 126 adult Wistar rats were used in study. In group I abdominal flaps were elevated and sutured back. Abdominal axial flaps were elevated and subsequent 8 hours of warm ischemia period was created in group II. Plasma ADMA levels were calculated preoperatively and after 4 hours of reperfusion.

**RESULTS:** Mean preoperative ADMA levels were calculated as 0,283 and 0,301  $\mu\text{mol/l}$  in group 1 and group 2. Postoperative ADMA levels were 0,296 and 0,471  $\mu\text{mol/l}$  respectively. At postoperative 10th day, mean area of flap necrosis were found to be as 2.6%  $\pm$  3.0 and 44.4%  $\pm$  10.7 in group 1 and group 2. Differences between preoperative ADMA levels were not statistically significant ( $p > 0.05$ ) but postoperative ADMA levels were significantly higher in group II ( $p < 0.05$ ). Statistically significant relationship was observed between concentration of ADMA and skin flap survival in study group ( $p < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** There is significant correlation between ADMA levels and flap survival in rat ischemia/reperfusion flap model. Systemic production of ADMA may be related with amount of reperfusion injury. Decreasing ADMA levels may be beneficial to decrease ischemia reperfusion injury of flaps or composite transplants, thus, ADMA might be a therapeutic target in reconstructive surgeries.

**Keywords:** Ischemia, reperfusion injury, surgical flap, asymmetric dimethyl arginine

## GİRİŞ

Nitrik oksit, deneysel şartlara bağlı olarak iskemi-reperfüzyon hasarını arttırabilir veya azaltabilir. Bu nedenle doku transplantasyonunda greft veya flep fonksiyonuna nitrik oksitin etkisi literatürde tartışılmıştır. Nitrik oksitin vasküler ve immün sistemler üzerinde de kompleks etkileri mevcuttur (1-3). İskemi reperfüzyon hasarı, zayıf fonksiyon gösteren dokularla sonuçlanan birçok mekanizmayı barındıran bir süreçtir (1,4). Bu mekanizmalardan bir tanesi, nitrik oksit ve endotelin arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak gelişen vazokonstriksiyondur (1). Günümüzde, endotelial bir enzim olan nitrik oksit sentetaz tarafından üretilen nitrik oksitin deri fleplerinin dolaşımı üzerinde kritik bir rol oynadığı iyi bilinen bir gerçektir.

Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) nitrik oksit sentetazın kuvvetli bir inhibitörüdür ve nitrik oksit seviyelerini düşürür (5). Akciğer, böbrek, kalp miyokardiyumu veya gastrik mukoza gibi değişik dokuların iskemik periyotları sırasında nitrik oksit eksikliği sonucu oluşan endotelial disfonksiyon kritik bir noktadır (6-9). Artmış

ADMA seviyeleri düşük nitrik oksit sentezi ile ilişkilidir ve bozulmuş endotel bağımlı vazodilatasyon ile değerlendirilebilir (10).

Yayınlanmamış bir ön çalışmada, deneysel bir iskemi reperfüzyon flep modelinde, kontrol grubu ile kıyaslandığında ADMA seviyesinin belirgin olarak yükseldiğini belirlemiştik. Bu bilgileri gözönünde tutarak, bu çalışmada, plazma ADMA seviyesi ile flep yaşayabilirliği arasındaki muhtemel ilişkiyi deneysel bir iskemi reperfüzyon flep modelinde araştırmayı planladık.

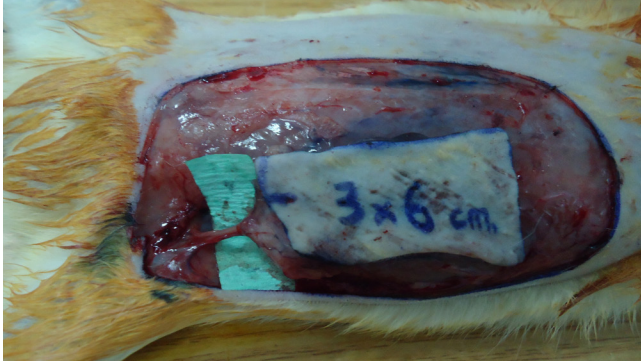
## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney, ortalama vücut ağırlığı 300  $\pm$  30 gr. olan 26 adet erkek Wistar cinsi sıçan üzerinde uygulandı. Sıçanlar sabit oda sıcaklığında (24  $\pm$  1 0C) ayrı ayrı kafeslerde takip edildi. Tüm sıçanlar için suya serbest ulaşım sağlandı ve 12 saatlik ışık/karanlık döngüsünde normal sıçan diyeti verildi. Hayvan bakımı ve cerrahi prosedürler uluslararası kurallar ve politikalara uygun şekilde yapıldı. Deney Ankara Eğitim Araştırma Hastanesi etik kurul kararı ile aynı hastanenin deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi.

### Deney Protokolü

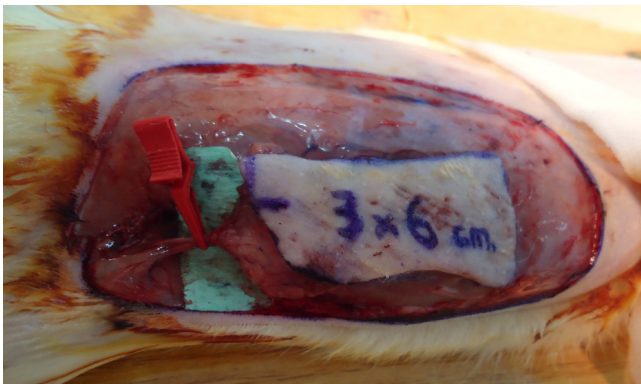
Çalışmada daha önceden tanımlanmış olan bir flep iske-mi-reperfüzyon modeli kullanıldı (11). Sıçanlara ketamine HCl 40 mg/kg (Ketalar, Parkee Davis) ve Xylazine HCl 10 mg/kg (Rompun, Bayer) karışımının intramusküler en-jeksiyonu ile anestezi uygulandı. Preoperatif ADMA sevi-yelerini ölçmek amacıyla biyokimya örnekleri alındı. Tüm hayvanlarda, orta hat medial sınır olarak kabul edilecek şekilde abdominal/kasık bölgesinde 3x6 cm.lik dikdörtgen deri flepleri ada flebi şeklinde kaldırıldı. Bu flep, süperfisyal epigastrik damarlar bazlı aksiyel dolaşım şekline sahip bir fleptir. Tüm musküler dallar kesildi ve flep, tüm kan akımı pedikül tarafından sağlanacak şekilde ada flebi olarak kaldı-rıldı. Grup 1'de (kontrol, n=10) abdominal flepler kaldırıldı ve iskemi yaratmadan yerine tekrar yerleştirildi (Resim 1).

**Resim 1:** Aksiyel dolaşimli abdominal flebin sadece vaskü-ler pedikül sağlam kalacak şekilde kaldırılması



Grup 2'de (n=16) ise abdominal fleplerin elevasyonunu takiben vasküler pedikül klemlendi ve 8 saatlik bir sıcak iskemi periyodu oluşturuldu (Resim 2).

**Resim 2:** Flep iskemisi oluşturmak amacıyla mikrovaskü-ler klempin yerleştirilmesi



Total flep iskemisi oluşturabilmek için 2 mm.lik bir mikrovasküler klemp arter ve ven üzerine yerleştiril-di. Klempin giriş noktası olan flebin inferolateral kısmı dışında flebin geri kalanı tekrar orijinal yerine dikildi. Sekiz saatlik sıcak iskemi periyodu sonrasında, klemp kaldırıldı ve damarlarda kan akımı olduğunu görmek için pedikül cerrahi mikroskop altında incelendi.

Vasküler spazmı çözmek için herhangi bir vazoaaktif çö-zelti kullanılmadı. Tüm sıçanlar numaralandırıldı ve 8 saatlik sıcak iskemi süresini takiben 4 saatlik bir reper-füzyon süresi sonrasında ADMA seviyelerinin ölçümü için plazma örnekleri alındı. Flepler günlük olarak göz-lemlemlendi ve postoperatif 10. günde tüm flepler dijital olarak fotoğraflandı. Fleplerin sağ kalım/nekroz bölge-leri ticari olarak elde edilebilen bir bilgisayar programı (AutoCAD 2012) ile hesaplandı ve yüzde olarak ifade edildi.

### Biyokimyasal Analiz

Kan örnekleri, alındıktan hemen sonra ADMA öl-çümleri için heparinize tüplerde santrifüj edildi. Plazma örnekleri kimyasal analize kadar -800C'de saklandı. ADMA seviyelerinin ölçümü için floresans tespiti için ortofitaldehit kullanarak yüksek perfor-manslı sıvı kromatografi (HPLC) kullanıldı. Prose-dür, Shimadzu Prominence HPLC System kullanıla-rak gerçekleştirildi.

### İstatistiksel Analiz

Tüm bilgiler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde sunul-du ve tablolarda açıklandı. Parametreler arasındaki li-neer ilişki Spearman's testi kullanılarak değerlendirildi.

### BULGULAR

Deney grubunda ortalama postoperatif ADMA seviye-si  $0.471 \pm 0.177$  ( $\mu\text{mol/l}$ ) ( $0.250 - 0.840$   $\mu\text{mol/l}$ ) olarak ölçüldü. Ortalama flep nekroz alanı 10. günün sonunda %  $44.4 \pm 10.7$  (% 28 - 64) olarak bulundu.

Post-hoc güç analizi çalışmanın % 94.7 (tip 2 hata 5.3) güce sahip olduğunu gösterdi. ADMA konsantrasyonu ile deri fleplerinin nekroz yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir lineer ilişki tespit edildi ( $Rho=0.672$ ,  $p<0.05$ ) (Tablo 1).

**Tablo 1:** ADMA konsantrasyonu ölçümleri ve flep nekroz oranlarının istatistiksel değerlendirmesi

|                  | Grup    | N  | Ortalama | SD    | Medyan | IQR   | Minimum | Maksimum | Persentil 25 | Persentil 75 | P              | Güç    |
|------------------|---------|----|----------|-------|--------|-------|---------|----------|--------------|--------------|----------------|--------|
| pre-op (µmol/l)  | kontrol | 10 | 0,283    | 0,051 | 0,283  | 0,07  | 0,197   | 0,345    | 0,254        | 0,324        | 0,445          | 55,29% |
|                  | çalışma | 16 | 0,301    | 0,070 | 0,294  | 0,109 | 0,198   | 0,427    | 0,241        | 0,350        | mann whitney u |        |
|                  | Toplam  | 26 | 0,294    | 0,063 | 0,289  | 0,097 | 0,197   | 0,427    | 0,245        | 0,342        |                |        |
| post-op (µmol/l) | kontrol | 10 | 0,296    | 0,054 | 0,296  | 0,109 | 0,220   | 0,376    | 0,245        | 0,354        | 0,004          | 75,5%  |
|                  | çalışma | 16 | 0,471    | 0,177 | 0,440  | 0,284 | 0,250   | 0,840    | 0,328        | 0,612        | mann whitney u |        |
|                  | Toplam  | 26 | 0,403    | 0,166 | 0,355  | 0,176 | 0,220   | 0,840    | 0,294        | 0,470        |                |        |
| Flep nekrozu (%) | kontrol | 10 | 2,6      | 3,0   | 1,5    | 5,0   | 0,0     | 8,0      | 0,0          | 5,0          | 0,000          | 100,0% |
|                  | çalışma | 16 | 44,4     | 10,7  | 44,0   | 15,5  | 28,0    | 64,0     | 36,0         | 51,5         | mann whitney u |        |
|                  | Toplam  | 26 | 28,3     | 22,4  | 32,0   | 45,0  | 0,0     | 64,0     | 4,0          | 49,0         |                |        |

## TARTIŞMA

İskemi reperfüzyon (I/R) hasarı değişik organ ve dokulardaki hücre hasarının en önemli nedeni olarak düşünülmektedir (12). Deneysel bulgulara göre nitrik oksit I/R hasarının önemli bir bileşenidir. İskemi reperfüzyon hasarında doku fonksiyonunu etkileyen önemli faktörlerden biri vazokonstriksiyondur ve bu durum genellikle nitric oksit ve endotelin arasındaki dengenin bozulması sonucunda oluşmaktadır (1,12).

Nitrik oksit (NO), amino asit öncüsü olan L-arjinden nitrik oksit sentetaz (NOS) tarafından sentezlenen önemli bir vazoaaktif mediatördür (10). Endotelial hücreler sürekli bir şekilde nitrik oksit oluştururlar. NO, plazma lipoproteinlerinin oksidatif modifikasyonunu engeller, monositlerin endotele adezyonunu azaltır, vasküler düz hücrelerin çoğalmasını engeller ve aynı zamanda trombosit aktivitesini baskılar (6).

Diğer yandan, hücre metabolizmasının ve oksijen kullanımının engellenmesi, elektrolit transportunun azaltılması ve glukoz ve protein sentezinin engellenmesi nitrik oksitin diğer koruyucu etkilerindedir (12). Hem nitrik oksit hem de nitrik oksit sentetazın deri ve flep dokusunda bazal kan akımı ve deri fleplerinin sağ kalımı için önemli olduğunu gösteren birçok yayın mevcut-

tur (13-17). Deri fleplerinin dolaşımını korumada nitrik oksit sentetaz tarafından oluşturulan nitrik oksitin önemli bir rol oynadığı deneysel olarak gösterilmiştir (13).

Asimetrik dimetil arjinin (ADMA), NOS aktivitesini engelleyerek NO sentezini azaltan önemli bir endojen maddedir. Boer ve arkadaşları ADMA konsantrasyonlarındaki küçük değişikliklerin bile vasküler NO üretimini, vasküler tonusu ve sistemik vasküler direnci belirgin şekilde etkilediğini belirtmişlerdir (10). Başka bir çalışmada da artmış plazma ADMA konsantrasyonunun ateroskleroz belirleyicileri ile pozitif olarak alakalı olduğu bulunmuştur ve prospektif çalışmalarda akut kardiovasküler olaylar için ön belirleyici olarak değerli olabileceği ifade edilmiştir (5). Ek olarak, ADMA'nın intravasküler infüzyonunun lokal vazokonstriksiyona neden olduğu da belirtilmiştir (5).

Ateroskleroz, serebral küçük damar hastalıkları, geçici iskemik ataklar ve serebral vazospazm gibi bazı patolojik durumlar da ADMA'nın yüksek konsantrasyonları ile alakalıdır (18). ADMA seviyesinin artmasının beyin perfüzyonunu azalttığı ve arteriyel sertlikleri arttırdığı da belirtilmiştir (18). Stühlinger ve arkadaşları, doku ADMA birikiminin reperfüzyon hasarının anlamlı bir

belirleyicisi olduğunu ifade etmişlerdir ve ADMA'nın miyokardiyal reperfüzyon hasarının tedavisinde potansiyel bir yeni hedef olabileceği sonucuna varmışlardır (7). Shibata ve arkadaşları ise artmış ADMA seviyelerinin tübülointerstisyel iskemiye neden olabileceğini belirtmişlerdir ve ADMA'nın baskılanmasının deneysel diyabetik nefropati modelinde, tübülointerstisyel iskemiyi ve sonrasında oluşacak böbrek hasarını azalttığını bulmuşlardır (19).

Başka bir çalışmada, Zhang ve arkadaşları, ADMA ile tetiklenen gastrik hasarı incelemişlerdir ve ADMA seviyesinin artmasının gastrik mukozal hastalıklarla ilgili olarak bir klinik belirleyici olabileceğini belirtmişlerdir (6).

Daha önce yapmış olduğumuz bir ön çalışmada, biz de benzer bir metodoloji kullanmış ve deneysel bir iskemi/reperfüzyon flep modelinde plazma ADMA seviyesindeki değişiklikleri kantitatif olarak belirlemiştik (20).

Bu çalışmada, plazma ADMA seviyesinin iskemi-reperfüzyon grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak arttığı tespit edildi. Aynı zamanda, flep sağ kalımı ve plazma ADMA seviyeleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif bağlantı belirlendi. Bu sonuç, NO üretiminin deri flebi sağ kalımı için olan önemi ile de uyumludur ve ADMA'nın diğer sistemlerin iskemi reperfüzyon hasarları üzerindeki tanı koydurucu değerini belirleyen çalışmaları da desteklemektedir. Plazma ADMA seviyesinin iskemi reperfüzyon hasarı için tek belirleyici olduğu sonucunu çıkaramayız ancak flep iskemi reperfüzyon hasarı miktarını belirlemede tahmin edici bir değeri olabileceğini söyleyebiliriz. Gelecekte plazma ADMA seviyesini kontrol etmenin flep sağ kalım oranları üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar planlanabilir ve ADMA, fleplerin iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak için bir preoperatif hedef olarak kullanılabilir. Sonuç olarak, bu tarz çalışmaların sonuçları flep cerrahisi, replantasyonlar ve kompozit doku allotransplantasyonları ile ilgili yeni klinik çalışmalara yön verebilir.

#### KAYNAKLAR

1)Martin-Sanz P, Olmedilla L, Dulin E. Presence of methylated arginine derivatives in orthotopic human liver transplantation: relevance for liver function. Liver transplantation : of-

ficial publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society. 2003; 9: 40-48.

2)Moncada S. Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. Annals of the New York Academy of Sciences. 1997; 811: 60-67.

3)Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. Cell. 1994; 78: 915-918.

4)Serracino-Ingloff F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. American Journal of Surgery. 2001; 181: 160-166.

5)Beltowski J, Kedra A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. Pharmacological Reports. 2006; 58: 159-178.

6)Zhang Z, Zou YY, Li FJ. Asymmetric dimethylarginine: a novel biomarker of gastric mucosal injury? World Journal of Gastroenterology. 2011; 17: 2178-2180.

7)Stuhlinger MC, Conci E, Haubner BJ. Asymmetric dimethyl L-arginine (ADMA) is a critical regulator of myocardial reperfusion injury. Cardiovascular Research. 2007; 75: 417-425.

8)Sousse LE, Yamamoto Y, Enkhbaatar P ve ark. Acute lung injury-induced collagen deposition is associated with elevated asymmetric dimethylarginine and arginase activity. Shock. 2011; 35: 282-288.

9)Fliser D. Perspectives in renal disease progression: the endothelium as a treatment target in chronic kidney disease. Journal of Nephrology. 2010; 23: 369-376.

10)Boger RH. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "L-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor. The Journal of Nutrition. 2004; 134: 2842S-2847S.

11)Prada FS, Arrunategui G, Alves MC. Effect of allopurinol, superoxide-dismutase, and hyperbaric oxygen on flap survival. Microsurgery. 2002; 22: 352-360.

12)Trocha M, Merwid-Lad A, Szuba A. Effect of simvastatin on nitric oxide synthases (eNOS, iNOS) and arginine and its derivatives (ADMA, SDMA) in ischemia/reperfusion injury in rat liver. Pharmacological Reports. 2010; 62: 343-351.

13)Um SC, Suzuki S, Toyokuni S. Involvement of nitric oxide in survival of random pattern skin flap. Plastic and Reconstructive Surgery. 1998; 101: 785-792.

14)Kuntscher MV, Kastell T, Altmann J, Menke H, Gebhard MM, Germann G. Acute remote ischemic preconditioning II: the role of nitric oxide. Microsurgery. 2002; 22: 227-231.

15)Azizzadeh B, Buga GM, Berke GS, Larian B, Ignarro

- LJ, Blackwell KE. Inhibitors of nitric oxide promote microvascular thrombosis. *Archives of Facial Plastic Surgery*. 2003; 5: 31-35.
- 16)Gribbe O, Samuelson UE, Wiklund NP. Effects of nitric oxide synthase inhibition on blood flow and survival in experimental skin flaps. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2007; 60: 287-293.
- 17)Gribbe O, Gustafsson LE, Wiklund NP. Transdermally administered nitric oxide by application of acidified nitrite increases blood flow in rat epigastric island skin flaps. *European Journal of Pharmacology*. 2008; 578: 51-56.
- 18)Dayoub H, Rodionov RN, Lynch C ve ark. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase inhibits asymmetric dimethylarginine-induced endothelial dysfunction in the cerebral circulation. *Stroke*. 2008; 39: 180-184.
- 19)Shibata R, Ueda S, Yamagishi S. Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in tubulointerstitial ischaemia in the early phase of diabetic nephropathy. *Nephrology, Dialysis, Transplantation : Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2009; 24: 1162-1169.
- 20)Karaaslan O, Sonmez E, Kankaya Y ve ark. Monitorization of asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in an experimental ischemia-reperfusion flap model: a preliminary report. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 2013; 29: 417-4.