

Koroner arter hastalığı için aile öyküsü pozitif olan bireylerde asimetrik dimetilarjinin düzeylerinin geleneksel risk puanlama yöntemleri ile ilişkisi

Relation of asymmetric dimethylarginine levels with conventional risk score systems in the healthy subjects with positive family history for coronary artery disease

Hulusi Satılmışoğlu, Hakan Özhan, Sinan Albayrak, Ahmet Kaya, İsmail Erden, Mehmet Yazıcı

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye

ÖZET

Amaç: Koroner arter hastalığı (KAH) Dünyada ve Türkiye’de en sık ölüm nedenidir. Asimetrik dimetilarjinin insanda nitrik oksit biyosentezinin majör inhibitörüdür. Yapılan çalışmalarda plazma asimetrik dimetilarjinin (ADMA) düzeylerindeki artışın endotel disfonksiyonu ve artmış ateroskleroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada asimetrik dimetilarjinin düzeylerinin koroner arter hastalığı aile öyküsü olan sağlıklı bireylerde mevcut risk belirleme yöntemleri ile ilişkisi araştırılmıştır.

Yöntemler: Enine-kesitli gözlemsel olarak tasarlanan bu çalışmaya birinci derece yakınları erken yaşta miyokart enfarktüsü geçiren, yaşları 20-40 arasında olan 52 birey ile kontrol grubu olarak benzer yaş grubunda 26 sağlıklı birey alınmıştır. Çalışmaya alınan deneklerin sigara, diyabet, hiperlipidemi gibi klasik, homosistein ve C-reaktif protein (CRP) gibi biyokimyasal risk faktörleri; Framingham ve TEKHARF risk skorları ve serum asimetrik dimetilarjinin seviyeleri arasındaki ilişki kategorik değişkenler için Ki-kare, sürekli değişkenler için Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Yapılan değerlendirme sonunda KAH açısından riskli bireylerin ortalama açlık kan şekeri, trigliserit, yüksek-dansiteli lipoprotein, diyastolik kan basıncı, bel çevresi, TEKHARF risk skoru kontrol grubundan yüksekti. Total kolesterol, düşük-dansiteli lipoprotein, CRP, homosistein, kreatinin, Framingham risk skoru değerleri gruplar arasında benzer bulundu. Asimetrik dimetilarjinin değerleri risk grubunda ortalama 0.1 µmol/L daha yüksek bulunsa da, bu fark istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmadı (0.7 ± 0.1 µmol/l’e karşılık 0.8 ± 0.1 µmol/l; $p=0.061$).

Sonuç: Asimetrik dimetilarjinin düzeyinin aile öyküsü pozitif olan bireylerde mevcut risk belirleme yöntemlerine ek fayda sağladığı gösterilememiştir. Bu konuda değişik risk gruplarına ait daha fazla sayıda olgu ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

(*Anadolu Kardiyol Derg 2011; 2: 114-8*)

Anahtar kelimeler: Koroner arter hastalığı, risk, asimetrik dimetilarjinin

ABSTRACT

Objective: Coronary artery disease is the most common cause of death in Turkey and the world. Asymmetric dimethylarginine is the major inhibitor of nitric oxide synthesis in humans. It has been shown that increased levels of asymmetric dimethylarginine is associated with endothelial dysfunction and increased atherogenesis. In this study, we aimed to investigate whether asymmetric dimethylarginine level is related with conventional risk score systems in subjects who had family history of coronary artery disease.

Methods: Fifty two subjects within 20-40 years old of whom first degree relatives had myocardial infarction at young ages and 26 age and sex matched control subjects were included in this cross-sectional observational study. Frequency of diabetes, hyperlipidemia, smoking and serum levels of homocysteine, high-sensitive C-reactive protein (hsCRP) and asymmetric dimethylarginine were compared between risk group and control subjects. Relation of asymmetric dimethylarginine level with Framingham and TEKHARF risk scores was also compared. Chi-square and Mann-Whitney U tests were used to compare categorical and continuous variables, respectively.

Results: Fasting serum glucose, triglyceride, high-density lipoprotein, diastolic blood pressure, waist circumference and TEKHARF scores were increased in the subjects who had family history of myocardial infarction. Total cholesterol, low-density lipoprotein, hsCRP, homocysteine, creatinine and Framingham risk score were similar in studied groups. Asymmetric dimethylarginine levels were 0.1µmol/L higher in the risk group; however this difference could not reach significance (0.7 ± 0.1 µmol/l vs 0.8 ± 0.1 µmol/l; $p=0.061$).

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Hakan Özhan, Düzce Üniversitesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, 81620 Konuralp, Düzce, Türkiye

Tel: +90 380 542 13 90 Faks: +90 380 542 13 87 E-posta: ozhanhakan@yahoo.com

Kabul Tarihi/Accepted Date: 16.08.2010 **Çevrimiçi Yayın Tarihi/Available Online Date:** 02.02.2011

©Telif Hakkı 2011 AVES Yayıncılık Ltd. Şti. - Makale metnine www.anakarder.com web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2011 by AVES Yayıncılık Ltd. - Available on-line at www.anakarder.com

doi:10.5152/akd.2011.029

Conclusion: Measurement of serum asymmetric dimethylarginine levels did not reveal utility in defining conventional coronary artery disease risk score systems in cases that had positive family history. Larger studies including patients with different risk tertiles are needed. (*Anadolu Kardiyol Derg 2011; 2: 114-8*)

Key words: Coronary artery disease, risk, asymmetric dimethylarginine

Giriş

Koroner arter hastalığı (KAH) ve inmeyi içeren kardiyovasküler hastalıklar Amerikalı yetişkinlerde ölümün en önemli nedenidir (1). Türk Erişkinlerinde de Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) çalışması verilerine göre 45-74 yaş kesiminde KAH'a bağlı ölüm oranı yıllık %1.52 olarak gerçekleşmiştir (2). Aterosklerotik hastalığın klinik bulguları ortaya çıktığında hastalık büyük olasılıkla ileri safhadadır ve bu noktadan sonra yapılan girişimler genellikle palyatif veya ikincil korumaya yöneliktir. Aterosklerozun klinik bulguları ortaya çıkmadan önce kolay elde edilebilen biyokimyasal belirteçlerle aterosklerozun tanısını koyabilmek halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Ateroskleroz patogenezinin ilk basamağının nitrik oksit (NO) yapımının azalmasına bağlı olarak vazodilatasyon cevabında azalmanın olduğu düşünülmektedir (3). Endojen nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan asimetric dimetilarjinin (ADMA) endotel disfonksiyonunda etkili olarak hem patogeneze rol alabileceği, hem de bir gösterge olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir (4). Bu sonucu destekleyen bir başka epidemiyolojik çalışma olan Gothenburg çalışmasında 24 yıl takip sonuna en yüksek beşte birlik ADMA dilimine sahip bireylerde miyokart enfarktüsü ve inme riskinde %29'luk bir artış bulunmuştur (5). Bu çalışmada ADMA düzeyinin 0.71 µmol/L üzerinde olan bireylerde SCORE ve Framingham risk puanlamasına göre on yıllık miyokart enfarktüsü ve inme ihtimalinde % 10'luk artış saptanmıştır (%22'ye karşı %12; p=0.003). Augsburg çalışması sonuçlarına göre sigara içmeyen erkeklerde de ADMA'nın benzer bir risk artışı göstergesi olduğu gösterilmiştir (6). Plazma ADMA düzeyleri kronik böbrek yetersizliği, ateroskleroz, diyabetes mellitus (DM), hiperkolesterolemi, hipertansiyon (HT), kalp yetersizliği gibi patolojilerde serumda yüksek oranlarda tespit edilmiş ve KVH gelişiminde bir risk faktörü olarak bildirilmiştir (7-9).

Bu çalışmanın amacı, koroner arter hastalığı açısından aile öyküsü olan riskli bireylerde ADMA düzeylerinin mevcut risk belirleme yöntemleri ile ilişkisi ve bu risk puanlama sistemlerine potansiyel katkısının araştırılmasıdır.

Yöntemler

Çalışma dizaynı ve hastalar

Çalışma enine-kesitli gözlemsel olarak tasarlandı. 2006-2009 yılları arasında Düzce Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi ya da Düzce Devlet Hastanesi Kardiyoloji servisinde ST elevasyonlu miyokart enfarktüsü ile yatan ≤45 erkek, kadınlarda ≤55 yaş ve altı hastalara telefonla ulaşıldı. Bunların birinci derece yakınları (çocuk ya da kardeş) arasından 20-40 yaş arası 52 kişi risk grubu olarak çalışmaya alındı. Yirmi ile kırk yaş ara-

sında olup ailesel riski olmayan yaş ve cinsiyet uyumlu 26 kişi kontrol grubu olarak alındı. Çalışma öncesi tüm hastalar bilgilendirilmiş onam formu imzaladı ve Düzce Üniversitesi, Tıp Fakültesi çalışmayı onayladı.

Diyabetes mellituslu hastalar, kronik karaciğer ve böbrek yetmezliği hastaları, gebeler, sürekli ilaç kullanmak zorunda olan hastalar ve oral kontraseptif kullanan kişiler çalışma dışı bırakıldı. Tüm deneklerin hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara içiciliği, alkol alımı gibi demografik özellikleri ayrıntılı olarak sorgulandı. Tüm deneklerin sistolik ve diyastolik kan basınçları ERKA marka (Sphygmomanometer 300, Erka. Kallmeyer Medizintechnik GmbH & Co., Bad Tölz, Germany) manometrik tansiyon aleti ile koldan manuel olarak ölçülerek kaydedildi.

Laboratuvar analizleri

Kan örnekleri sabah saatlerinde aç karnına olacak şekilde antekubital venden alındı. ADMA dışındaki örnekler aynı gün biyokimya laboratuvarında çalışıldı. ADMA için EDTA'lı tam kan tüpüne alınan kan örnekleri santrifüj edildi. Santrifüje edilen örnekler -80°C saklandı ve toplu olarak çalışıldı. Deneklerin tamamının açlık kan şekeri (AKŞ), düşük-dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek-dansiteli lipoprotein (HDL), total kolesterol (total K), trigliserit, kreatinin, yüksek-duyarlılık C-reaktif protein (hsCRP) (COBAS 6000 autoanalyzer, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), homosistein (Immulate 2000 autoanalyzer, Siemens Health Care diagnostics, Flanders, NJ, USA) ve ADMA düzeyleri ölçüldü. Tüm deneklerin TEKHARF ve Framingham risk hesaplama yöntemleri ile puanları hesaplandı. Her iki risk hesaplama yöntemi daha önce ayrıntılı olarak yayınlanmıştır (10-11).

Asimetric dimetilarjinin (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany) ölçümünde serum örnekleri ticari kitin prospektüsünde belirtildiği gibi ölçüm yapılacağı güne kadar -80°C derecede donduruldu ve ölçüm yapılacağı zaman uygun şekilde çözdürülerek oda sıcaklığına getirildi ve Bio-Rad 680 model microplate reader cihazında (Bio-Rad Laboratories, Clinical Diagnostics Group, Hercules, CA, USA) ELİSA (enzim bağlı immunsorbent ölçüm) metodu ile değerlendirildi.

İstatistiksel analiz

Çalışma öncesinde yapılan güç analizinde sağlıklı bireyler ve risk grubu arasında ADMA için 0.1±0.1 µmol/l farkı %95 doğrulukla saptamak için 27 denek kullanılması gerektiği görülmüş olup istatistik gücünü arttırmak için 2:1 oranı ile risk grubu ve kontrol grubu bireyleri çalışmaya alındı. Tüm veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) (Chicago, IL, USA) programı ile analiz edildi. Grupların verilerinin dağılımı Kolmogorov-Smirnow ve Shapiro-Wilks yöntemleri ile değerlendirildi. Normal dağılımı olmayan grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U ve

Ki-kare testleri kullanıldı. Korelasyon analizinde sayısal değişkenler Pearson, kategorik değişkenler Spearman analizi ile değerlendirildi. P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışma kohortunun demografik ve klinik değişkenleri Tablo 1'de verilmiştir. Çalışma kohortunda hipertansif ve diyabetik hasta mevcut değildi. KAH açısından riskli bireylerin ortalama açlık kan şekeri, trigliserit, HDL, diyastolik kan basıncı, bel çevresi, TEKHARF risk skoru kontrol grubundan yüksekti. Total kolesterol, LDL, hsCRP, homosistein, kreatinin, Framingham risk skoru değerleri gruplar arasında benzer bulundu. ADMA değerleri risk grubunda ortalama 0.1 $\mu\text{mol/L}$ daha yüksek bulunsada, bu fark istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmadı.

Risk grubu ve kontrol grubu Framingham risk skoru, Framingham risk yüzdesi ve TEKHARF risk skoru açısından incelendiğinde TEKHARF risk skoru iki grup arasında anlamlı olarak farklıydı (kontrol grubu 3 ± 6 , risk grubu 6 ± 6 ; $p=0.035$).

Framingham risk skorlama sistemi açısından iki grup arasında risk farklı bulunmadı. ADMA değerleri kontrol grubunda 0.7 ± 0.1 $\mu\text{mol/l}$ ve risk grubunda 0.8 ± 0.1 $\mu\text{mol/l}$ ($p=0.061$) olarak bulundu. Bu sonuç risk grubunda hafif bir yükselme eğilimi gösterse de istatistiksel önem taşımamaktaydı.

Risk grubunda ikişer hasta Framingham ve TEKHARF skorlama sistemlerine göre orta (önümüzdeki 10 yılda KAH gelişme riski %10-20 arasında), diğer bireylerin tamamı düşük riske sahipti. Düşük istatistiksel güce rağmen yapılan analizde orta riske sahip bireylerle düşük riske sahip bireyler arasında ADMA düzeyleri arasında fark gözlenmedi (orta risk ortalaması 0.79 ± 0.02 , düşük risk ortalaması 0.76 ± 0.12 ; $p=0.712$).

Serum ADMA değerleri ile Framingham ve TEKHARF risk puanları arasında korelasyon gözlenmedi (TEKHARF için $r=0.028$, $p=0.8$ ve Framingham için $r=0.05$, $p=0.968$), ancak homosistein ile Framingham risk skoru arasında anlamlı ilişki saptandı ($r=0.237$, $p=0.037$).

Sigara içmenin serum ADMA düzeylerini etkileyebileceği düşüncesi ile sigara içmeyen kişilerin alt grup analizinde de riskli bireyler ve kontrol grubu arasında ADMA, hsCRP ve homosistein düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tartışma

Çalışmamızın sonuçlarına göre KAH için ailesel risk taşıyan kişilerde kan ADMA düzeyleri, ailesel risk taşımayan kişilere göre daha yüksek değildir. Ailesinde KAH öyküsü olan ancak düşük riske sahip bireylerde kan ADMA değerleri mevcut risk skorlama yöntemlerine ek fayda sağlamamaktadır.

Asimetrik dimetilarjinin, endotel hücrelerden sentezlenen, idrar, plazma ve dokularda bulunan, L- arjinin aminoasidinin guanid analogudur. İlk defa 1992 yılında Vallance ve ark. (12) tarafından insan plazmasında NO sentezini inhibe eden molekül olarak

Tablo 1. Koroner arter hastalığı açısından riskli bireylerle kontrol grubunun klinik ve demografik verilerinin karşılaştırılması

Değişkenler	Kontrol (n=26)	Risk grubu (n=52)	*p
Yaş, yıl	32±5 (23-39)	31±6 (20-40)	0.698
Kadın, n (%)	13 (50)	25 (48)	0.873
Boy, cm	167±8 (157-183)	167±8 (153-188)	0.941
Bel çevresi, cm	82±15.8 (62-110)	91±13 (60-120)	0.02
Sistolik kan basıncı, mmHg	112±7 (90-120)	114±19 (90-140)	0.386
Diyastolik kan basıncı, mmHg	72±8 (60-80)	76±8 (60-90)	0.039
Düzenli egzersiz yapan, n (%)	5 (19)	9 (17)	0.343
Hiperlipidemi, n (%)	8 (31)	18 (35)	0.734
Sigara içen, n (%)	8 (31)	26 (50)	0.108
Alkol kullanan, n (%)	3 (12)	6 (12)	0.795
Açlık kan şekeri, mg/dl	91±9 (76-117)	98±10 (78-137)	0.002
LDL, mg/dl	108±29 (45-154)	107±43 (37-254)	0.491
Total kolesterol, mg/dl	176±38 (100-258)	177±47 (102-342)	0.691
HDL, mg/dl	49±11 (32-70)	41±10 (27-70)	0.007
Trigliserit, mg/dl	99±74 (38-398)	141±90 (26-470)	0.006
Kreatinin, mg/dl	0.83±0.2 (0.62-1.22)	0.79±0.1 (0.57-1.08)	0.445
hs CRP, mg/dl	2.7±3.8 (0.2-15.5)	4.3±6.4 (0.3-28.6)	0.301
Homosistein, mg/dl	14±9 (4.8-50)	11±8 (3.1-39)	0.222
ADMA, $\mu\text{mol/l}$	0.7±0.1 (0.29-0.828)	0.8±0.1 (0.17-0.87)	0.061

Veriler ortalama±standart sapma (minimum-maksimum) ve oran (yüzde) olarak verilmiştir
*Mann-Whitney U testi ve Ki-kare testi
ADMA - asimetrik dimetilarjinin, HDL-yüksek-dansiteli lipoprotein, LDL - düşük-dansiteli lipoprotein, hsCRP - yüksek-duyarlılık, C-reaktif protein

tanımlanmıştır. Daha sonra ADMA'nın nitrik oksit sentaz enzimini kompetitif olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (13). Asimetrik dimetilarjinin NO düzeyini azaltarak endotel disfonksiyonu yaptığı ve platelet agregasyonu, lökosit adezyonu ve vasküler düz kas proliferasyonuna yol açarak vasküler hasara yol açtığı gösterilmiştir (14-16). ADMA'nın koroner olaylar ve kardiyovasküler mortalitenin bağımsız belirleyicisi olduğu da bildirilmiştir (17).

CARDIA çalışmasında genç yetişkinlerde ADMA'nın koroner arter kalsifikasyonu ile diğer faktörlerden bağımsız olarak birlikte olduğu ve ateroskleroz başlangıcının markeri olarak yararlı olabileceği bildirilmiştir (9). Böger ve ark.nın (13) gerçekleştirdiği bir çalışmada da genç, asemptomatik hiperkolesterolemili kişilerde serum ADMA düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu ve yüksek ADMA düzeyleri arttıkça endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulduğu saptanmıştır. Bu kişilere intravenöz L-arjinin infüzyonu ile ADMA düzeylerinde azalma ve endotel fonksiyonlarında iyileşme gözlenmiştir. KAH için yüksek riskli 18-40 yaş arası premenopozal kadınlarla erkeklerin karşılaştırıl-

diği başka bir çalışmada premenopozal kadınlarda KAH oranı erkeklere göre daha düşük olmasına rağmen, ADMA seviyeleri ve CRP seviyeleri her iki grupta benzer bulunmuştur (8). Çalışmamızda kan ADMA seviyeleri ailesel risk taşıyan grupta 0.1µmol/L daha yüksek bulunmasına rağmen kontrol grubu ile arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Epidemiyolojik açıdan risk faktörü, ilgilenilen hastalığın başlangıcından önce ortaya çıkan ve biyolojik olarak inandırıcı mekanizmalarla ilgili hastalığa yol açan değişken olarak tanımlanmaktadır. Koroner arter hastalığı ile ilgili ilk risk faktörü çalışması 1948 yılında başlatılan Framingham kalp araştırmasıdır. Kardiyovasküler olay riskinin çok sayıda değişkene dayanılarak hesaplanması için, çok değişkenli risk modelleri geliştirilmiştir. Amerikan Kalp Derneği ve Framingham araştırmacıları tarafından önerilen Framingham skorlaması sadece standart risk faktörlerini (sigara kullanımı, kan basıncı, serum kolesterolü, yaş, kan glikozu gibi) kullanmaktadır. Framingham risk faktörleri ABD’de 30-74 yaş arasındaki büyük bir kohortta ileriye dönük olarak incelenip geliştirilmiş, daha sonra çeşitli popülasyonlarda doğrulanmıştır (10). Türk yetişkinlerinde benzer bir ihtiyaçtan yola çıkılarak TEKHARF kohortu verileri kullanılarak ulusal risk skorlama yöntemi geliştirilmiştir (11). KAH’ı öngörebilmek ve sonrasında primer koruma yöntemlerini gerekli kişilere erken yaşlarda daha yoğun uygulayabilmek için kolay uygulanabilir, ucuz ve güvenilir yeni belirteçlere ihtiyaç vardır. Çalışmamızda birinci derece yakınlarında erken yaşta miyokart enfarktüsü geçiren kişilerde ADMA düzeyinin normal popülasyona oranla artıp artmadığı test edildi. Ulusal ve uluslararası kullanımı en yaygın iki risk skorlama sistemi ile ADMA düzeyleri arasındaki ilişki ve risk skorlamasına potansiyel katkısı da incelendi. Ancak, ADMA düzeyinin mevcut risk skorlama yöntemlerine ek yarar sağlayacağı hipotezi doğrulanamadı.

Yine bu çalışmanın primer hipotezi olmamakla birlikte homosistein ve hsCRP düzeylerinin de incelenmiş olması çalışma sonuçlarını daha anlamlı hale getirmektedir. Homosistein metiyoninden oluşan sülfür içeren esansiyel bir aminoasittir. Serumda normal olarak düşük düzeyde (5-15 µmol/L) homosistein bulunmaktadır. Serumda homosistein düzeyinin artması tromboza yatkınlığa, oksidatif stres durumuna ve endotel fonksiyonlarında bozulmaya ve nihayetinde ateroskleroza neden olmaktadır (19). Serum homosistein düzeylerinin kardiyovasküler olayları öngördüren değerli bir belirteç olduğu gösterilmiştir (20). Çalışmamızda risk grubundaki bireylerle kontrol grubu homosistein ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış ancak homosistein düzeyi ile Framingham risk skoru arasında doğrusal korelasyon ($r=0.237$, $p=0.037$) gösterilmiştir.

Çalışmanın kısıtlılıkları

Çalışmanın en önemli kısıtlılığı olgu sayısının azlığıdır. Aile hikâyesi olmadan erken yaşta miyokart enfarktüsü geçiren birçok sporadik olgu olduğu gerçeğinden hareketle genç yaşta ancak KAH açısından orta ve/veya yüksek riske sahip bireyler üzerinde

yürütülecek bir çalışmanın sonuçları ADMA’nın bu grupta prognostik değeri hakkında daha geçerli sonuçlara ulaştırabilir.

Sonuç

ADMA düzeyleri koroner arter hastalığı aile öyküsü olan sağlıklı bireylerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan oranda daha yüksek bulunduysa da mevcut risk belirleme yöntemlerine ek fayda sağladığı gösterilememiştir. Bu çalışmada risk grubunda yer alan hastaların tamamına yakınının geleneksel risk skorlama yöntemlerine göre düşük riskli olması gerçeğinden hareketle, ADMA düzeylerini değişik risk gruplarına ait daha fazla sayıda olgu üzerinde inceleyecek çalışmalara ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Çıkar çatışması: Bildirilmemiştir.

Kaynaklar

1. Cooper R, Cutler J, Desvigne-Nickens P, Fortmann SP, Friedman L, Havlik R, et al. Trends and disparities in coronary heart disease, stroke, and other cardiovascular diseases in the United States: findings of the national conference on cardiovascular disease prevention. *Circulation* 2000; 102: 3137-47.
2. Onat A, Karabulut A, Esen AM, Uyarel H, Özhan H, Albayrak S, et al. TEKHARF Çalışması 2005 taramasına ilişkin mortalite ve koroner olay analizi. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2006; 34: 149-53.
3. Dusting GJ, Fennessy P, Yin ZL, Gurevich V. Nitric oxide in atherosclerosis: vascular protector or villain?, *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 1998; 25: S34-41.
4. Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation* 2009; 119: 1592-600.
5. Leong T, Zylberstein D, Graham I, Lissner L, Ward D, Fogarty J, et al. Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women: 24-year follow-up of the Population Study of women in Gothenburg. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 961-7.
6. Maas R, Schulze F, Baumert J, Löwel H, Hamraz K, Schwedhelm E, et al. Asymmetric dimethylarginine, smoking, and risk of coronary heart disease in apparently healthy men: prospective analysis from the population-based Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease/Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg study and experimental data. *Clin Chem* 2007; 53: 693-701.
7. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine: a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med* 2006; 38: 126-36.
8. Tonstad S, Thorsrud H, Torjesen PA, Seljeflot I. Do novel risk factors differ between men and women aged 18 to 39 years with a high risk of coronary heart disease? *Metabolism* 2007; 56: 260-6.
9. Iribarren C, Husson G, Sydow K, Wang B, Sidney S, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine and coronary artery calcification in young adults entering middle age: the CARDIA Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14: 222-9.
10. Smith SC Jr, Greenland P, Grundy SM. AHA Conference Proceedings. Prevention conference V: Beyond secondary prevention: Identifying the high-risk patient for primary prevention: executive summary. American Heart Association. *Circulation* 2000; 101: 111-6.

11. Onat A. A proposed scoring scheme for assessing coronary risk in Turkish adults. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2002; 30: 604-11.
12. 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.
13. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842-7.
14. Wang D, Strandgaard S, Iversen J, Wilcox CS. Asymmetric dimethylarginine, oxidative stress and vascular nitric oxide synthase in essential hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009; 296: 195-200.
15. Yada T, Kaji S, Akasaka T, Mochizuki S, Ogasawara Y, Tanemoto K, et al. Changes of asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, tetrahydrobiopterin, and oxidative stress in patients with acute myocardial infarction by medical treatments. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007; 37: 269-76.
16. Hori T, Matsubara T, Ishibashi T, Ozaki K, Tsuchida K, Mezaki T, et al. Significance of asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentrations during coronary circulation in patients with vasospastic angina. *Circ J* 2003; 67: 305-11.
17. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the 'L-arginine paradox' and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J Nutr* 2004; 134: 2842-7.
18. Smith SC Jr, Milani RV, Arnett DK, Crouse JR 3rd, McDermott MM, Ridker PM, et al. Atherosclerotic Vascular Disease conference: Writing Group II: risk factors. *Circulation* 2004; 109: 2613-6.
19. Frantzen F, Faaren AL, Alfheim I, Nordhei AK. Enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum. *Clin Chem* 1998; 44: 311-6.
20. Kaul S, Zadeh AA, Shah PK. Homocysteine hypothesis for atherothrombotic cardiovascular disease: not validated. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 914-23.