

非对称性二甲基精氨酸 ——新的心血管疾病危险因子和药物防治靶点

姜德建 综述, 李元建 审校

(中南大学药学院药理学系, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 药理学; 心血管疾病的药物防治; 综述; 非对称性二甲基精氨酸; 二甲基精氨酸二甲胺水解酶

[摘要] 内源性一氧化氮合酶抑制剂非对称性二甲基精氨酸能通过多种机制导致内皮功能不全, 其水平与心血管疾病临床事件发生率呈明显正相关, 被认为是一个新的心血管疾病危险因子。二甲基精氨酸二甲胺水解酶的活性降低是非对称性二甲基精氨酸水平升高的主要原因, 通过调节二甲基精氨酸二甲胺水解酶/非对称性二甲基精氨酸系统改善血管内皮功能可能是心血管疾病药物防治的新途径。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

血管内皮功能不全在心血管疾病的发生发展中起重要作用, 而一氧化氮(nitric oxide, NO)被认为是维持血管结构和功能的主要分子。1992年 Vallance 等报告血中有一种内源性一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)抑制剂——非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA), 它能竞争性抑制 NOS 活性, 减少 NO 生成。在多种病理生理状况下 ADMA 水平显著升高, 并且能导致这些状况下的血管内皮功能不全。近期的研究主要集中于: ①ADMA 致内皮功能不全的机制; ②ADMA 与心血管疾病临床事件发生的关系; ③体内 ADMA 的代谢机制; ④ADMA 的药物干预。本文就近年来以上几个方面的研究进展作一综述。

1 非对称性二甲基精氨酸与内皮功能不全

L-精氨酸的同系物单甲基精氨酸(N^G -monomethyl-L-arginine, L-NMMA)和 ADMA 是 NOS 的内源性抑制剂, 体内 ADMA 的含量明显高于 L-NMMA, 正常人血浆中 ADMA 浓度大约为 $1 \mu\text{mol/L}$ 。在离体和在体试验中, 外源性 ADMA 呈浓度依赖性减少内皮细胞的 NO 合成和抑制乙酰胆碱诱导的血管舒张反应。动物实验与临床研究证明, 多种心血管疾病血浆 ADMA 水平明显升高, 并发现其与血管内皮功能不全密切相关, 故 ADMA 被认为是一个新的内皮功能不全的预测因子^[1,2]。

然而, 目前认为 ADMA 损伤内皮的机制远比简单的描述为 NOS 抑制剂要复杂。在缺乏底物或辅因子的情况下, NOS 的催化活性出现失偶联, 不能催化 L-精氨酸的两个电子氧化而形成 NO, 相反使分子氧接受单个电子而生成超氧阴离子自由基。在 L-NMMA 和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)存在的情况下也能诱导这种 NOS 失偶联。最近, Boger

等报道在培养的血管内皮细胞, ADMA 呈浓度依赖性增加超氧阴离子的生成, 可能与其诱导 NOS 失偶联有关^[3]。体内 ADMA 水平的升高与机体自由基增加所导致的氧应激有关, 而增加的 ADMA 又能通过 NOS 失偶联产生更多的自由基, 从而形成一个恶性循环, 加速内皮功能损伤及促进心血管疾病发展。

血管炎症反应参与了多种心血管疾病如动脉粥样硬化的发生发展, 其涉及到系列炎症因子瀑布的触发。在培养的内皮细胞, 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)能显著增加细胞培养基中 ADMA 水平; 而外源性 ADMA 能通过激活核因子 κB , 上调内皮细胞单核细胞趋化因子 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)的表达和增加单核细胞对内皮细胞的粘附^[3,4]。高脂血症患者单核细胞对内皮的粘附增加也显示与血浆 ADMA 水平的升高有关^[5]。临床研究发现, ADMA 水平与 TNF- α 、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等传统炎症因子存在明显的关联。这些研究提示 ADMA 可能在血管炎症反应中充当重要的角色。然而, ADMA 是否作为一个炎症因子直接参与了炎症因子瀑布须进一步研究。

2 非对称性二甲基精氨酸——新的心血管疾病危险因子^[6]

1999 年 Migazaki 等经多变量回归分析发现 116 名外观健康者的血浆 ADMA 水平与动脉中膜内厚度明显正相关, 而后者已被报道与心肌梗死、休克等临床事件呈明显关联。Boger 等亦发现 ADMA 水平高的血液透析患者有同样情况, 并且在动脉中膜内厚度正常的患者进行一年的随访后, 发现 ADMA 与 CRP 是动脉内膜斑块发展的独立预测因子。此外, 在肾衰血透患者中 ADMA 也显示与左心室肥厚及功能失调呈正相关。对 225 名肾衰血透患者的前瞻性研究中发现 ADMA 水平能够很好的预测这些患者的心血管事件及总死亡率。一项病例-对照研究报道, 芬兰的 150 名不吸烟健康男子的 ADMA 水平与急性心血管事件发生率明显关联。最近的一项前瞻性研究显示 ADMA 能预测经皮冠状动脉扩

[收稿日期] 2004-02-26 [修回日期] 2004-08-13

[基金项目] 湖南省自然科学基金(02JJY2046)

[作者简介] 姜德建, 博士研究生, 研究方向为心血管药理, E-mail 为 de_jianjiang@hotmail.com。李元建, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管药理, E-mail 为 yuan_jianli@yahoo.com。

张术的预后^[7]。对 153 例稳定型心绞痛择期经皮冠状动脉扩张术患者术后平均随访 16 月,发生重大心血管事件的危险随着 ADMA 的增高而增高,且独立于其他可能的危险因素。这些研究表明,ADMA 可能是一个新的心血管疾病危险因素。

3 非对称性二甲基精氨酸水平升高的机制

内源性二甲基精氨酸是以 S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体,由甲基化蛋白转移酶(protein arginine methyltransferase, PRMT)催化蛋白或多肽中的精氨酸残基甲基化,然后在蛋白水解酶的作用下由甲基化蛋白水解而来。PRMT 可分为 PRMT-I 型和 PRMT-II 型,分别催化生成 ADMA 和对称性二甲基精氨酸(symmetric dimethylarginine, SDMA)。ADMA 的消除主要经二甲基精氨酸二甲胺水解酶(dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH)水解成瓜氨酸和二甲胺,部分以原形经肾脏排泄。最近的研究显示肝脏可能也是代谢 ADMA 的重要器官^[8]。ADMA 的生成增加或(和)消除减少都能导致体内 ADMA 水平的升高。

3.1 甲基化蛋白转移酶表达上调或(和)活性增强

在 LDL 存在的情况下,内皮细胞的 PRMT 活性增加了 3 倍,部分与 PRMT 的基因表达上调有关。最近的研究显示,适中的应切力能上调血管内皮细胞 PRMT-I 的基因表达和增加 ADMA 的生成^[9]。然而,虽然 PRMT 的表达或/和活性的上调能增加甲基化蛋白从而导致 ADMA 生成增加,但是在 ADMA 生成之前甲基化蛋白还须经过蛋白水解酶的水解,由此推测 PRMT 活性在调节血浆游离 ADMA 水平中可能并不起决定作用。

3.2 肾脏和肝脏功能失调

晚期肾功能衰竭患者血中 ADMA 浓度明显升高,并与血肌酐含量成比例增加,提示肾功能降低从而减少 ADMA 排泄可能导致了肾衰患者 ADMA 的升高。然而,在一些高血压及动脉粥样硬化动物模型或患者血浆 ADMA 浓度的升高并不伴有肾功能不全,提示在这些疾病时 ADMA 升高并非肾脏对其清除减少所致。目前认为,SDMA 主要经肾脏排泄,相反 ADMA 以体内代谢为主。最近研究发现血浆 ADMA 的水平与乳酸及胆红素浓度存在关联,肝功能在调节 ADMA 水平上可能发挥了一定的作用。肝功能衰竭患者血浆 ADMA 水平明显升高,可能与 ADMA 在肝脏代谢减少有关。

3.3 二甲基精氨酸二甲胺水解酶活性降低

二甲基精氨酸二甲胺水解酶(DDAH)抑制剂 4124w 可显著增加内皮细胞培养基中 ADMA 水平和诱导离体血管内皮依赖性收缩,后者可以被 L-精氨酸所逆转。用多种因素(如 ox-LDL、TNF- α 、同型半胱氨酸和高糖)孵育培养的内皮细胞可使培养基中的 ADMA 含量显著增加,这种增加与 DDAH 的活性降低有关,但与内皮细胞 DDAH 的表达无关。高脂血症和高同型半胱氨酸血症时 ADMA 水平的提升也显示与 DDAH 活性降低有关。这些研究提示 DDAH 功能失调所致的 ADMA 代谢减少可能是多种心血管疾病 ADMA 升高的主要原因。此外,在高表达 DDAH-I 的内皮细胞和转基因小

鼠,ADMA 水平显著降低而 NOS 活性明显增高,这也直接证明了 DDAH 在调节 ADMA 水平上的重要作用^[10]。目前,DDAH 已经被克隆,并对其的基因定位、结构及功能有了相当的了解^[11]。DDAH 存在 DDAH-I 和 DDAH-II 两个亚型。DDAH-I 主要分布于表达神经型 NOS 的组织(大脑、肾脏),而 DDAH-II 主要分布于表达内皮型 NOS 的组织(血管、心脏、脾脏和肾脏)。在 DDAH 结构中存在由 Cys-His-Glu 组成的催化活性部位,其中游离的半胱氨酸残基(Cys-249)为 DDAH 活性所必须。由于在半胱氨酸残基结构中含有巯基,在氧应激的条件下容易形成二硫键,从而导致 DDAH 功能失调。此外,在体外同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)可直接与半胱氨酸残基结合形成二硫化物而使 DDAH 失活。

4 二甲基精氨酸二甲胺水解酶/非对称性二甲基精氨酸系统——心血管疾病药物防治的新靶点

随着对内皮功能不全和 ADMA 在心血管疾病发生发展中作用的不断认识,通过降低 ADMA 从而改善血管内皮功能可能为心血管疾病防治提供了新途径。干预 ADMA 的策略有:通过应用外源性 L-精氨酸,提高 L-精氨酸/ADMA 的比值,逆转 ADMA 对 NOS 的竞争性抑制;④通过药物调节 ADMA 相关酶的活性,减少 ADMA 生成或增加其代谢,从而降低 ADMA 水平。鉴于 DDAH 在调节 ADMA 水平上起主要作用,通过调节 DDAH/ADMA 系统而改善内皮功能可能成为心血管疾病药物防治的新靶点。

4.1 L-精氨酸

内源性 ADMA 的升高可能导致了“精氨酸反常”现象。升高的 ADMA 水平不仅能与 L-精氨酸竞争 NOS,从而减少 NOS 对 L-精氨酸的利用,而且还可能通过抑制 L-精氨酸的跨膜转运(y+ 转运),降低内皮细胞内 L-精氨酸浓度。补充 L-精氨酸可提高细胞内 L-精氨酸/ADMA 比值,逆转 ADMA 对 NOS 的竞争性抑制,增加 NO 的生成从而改善内皮功能。动物实验和临床研究证明^[6,12],给予 L-精氨酸治疗不仅能改善高 AMDA 水平情况下(高胆固醇血症、高同型半胱氨酸血症及老年等)的内皮功能不全,而且能缓解多种心血管疾病(心衰、动脉瘤等)的临床症状。

4.2 血管紧张素转换酶抑制剂和血管紧张素受体拮抗剂

在原发性高血压患者,血管紧张素转换酶抑制剂培多普利或血管紧张素受体拮抗剂洛沙坦能降低血压,同时降低血浆 ADMA 和 von Willebrand 因子(vWF)水平^[13]。在不伴有并发症的 II 型糖尿病患者,给予培多普利治疗 4 个星期后血浆 ADMA 浓度和 vWF 水平明显降低,而血压和糖代谢并不受影响^[14]。这些研究也提示原发性高血压或 II 型糖尿病的 ADMA 升高及内皮功能不全可能与肾素-血管紧张素系统的功能失调有一定关系。对 X 综合症患者长期给予依那普利治疗能显著提高冠状微血管功能和改善心肌缺血状况,这种保护作用与其降低血浆 ADMA 水平、提高内皮 NO 的生物利用度有关^[15]。在 LDL 诱导的大鼠血管内皮功能不全模型,卡托普利能明显降低血浆 ADMA 水平和改善内皮依赖的血管舒张功能,而不含巯基的依那普利不影响 ADMA 水平。卡托

普利降低 ADMA 水平的作用与提高 DDAH 活性有关^[16]。

4.3 雌激素

最新的临床调查显示女性冠心病患者的内皮功能不全与体内雌激素水平降低和 ADMA 浓度升高有关^[17]。多项临床前瞻性研究发现, 雌激素替代治疗能显著降低健康绝经后妇女血浆 ADMA 水平^[18-20]。我们近期的研究也显示, 17 β -雌二醇能明显改善 LDL 诱导的大鼠血管内皮功能不全, 同时伴有血浆 ADMA 水平的降低^[21]。在培养的人或鼠的血管内皮细胞, 17 β -雌二醇能显著增加 DDAH 活性和降低 ADMA 水平^[20]。

4.4 降糖药物

近年来对糖尿病动物模型和 II 型糖尿病患者研究发现, 糖尿病的血管功能损害与血浆 ADMA 升高有关, 而血浆 ADMA 水平也显示与糖代谢控制密切相关。最近在 II 型糖尿病患者观察到用二甲双胍治疗 3 个月使代谢控制恢复正常后, 血浆 ADMA 浓度也降低^[22]。在胰岛素抵抗患者, 血管内皮功能不全与血浆 ADMA 升高有关, 而且 ADMA 浓度与胰岛素抵抗程度成正相关; 使用 rosiglitazone 增加胰岛素敏感性, 能够显著降低 ADMA 水平^[23]。

4.5 抗氧化药物

抗氧化药 PDTc 能抑制 Hcy 诱导的 ADMA 水平升高和 DDAH 活性的降低^[24]。在培养的内皮细胞, 细胞内抗氧化药 PG-SOD 能抑制高糖引起的 DDAH 活性降低和 ADMA 水平的升高^[25]。此外, 抗氧化药维生素 E 和普罗布考均能阻止 LDL 诱导的内皮细胞损伤和血管舒张功能障碍, 其作用与改善内皮细胞 DDAH 活性、降低 ADMA 水平有关^[26-28]。

4.6 营养因子

All-trans-retinoic acid (atRA) 是维生素 A 的衍生物, 在心血管系统的发育和成熟过程中起重要作用。在培养的鼠内皮瘤细胞, atRA 能增加 DDAH-II 基因的表达, 从而增加 NO 的生成^[29]。Hcy 是蛋氨酸和半胱氨酸代谢过程中的一个重要中间产物, 高同型半胱氨酸血症能增加 ADMA 水平, 导致内皮功能不全。当 Hcy 代谢中作为辅酶的维生素 B₆、B₁₂ 或叶酸缺乏时可导致 Hcy 的升高。近期的一项临床研究显示, 对高同型半胱氨酸血症患者给予 6 周或 12 个月的叶酸治疗, 能显著降低血浆 ADMA 水平, 其 ADMA 水平与血浆 Hcy 成正相关而与叶酸水平成负相关^[30]。然而在另外的一项研究中, 对高同型半胱氨酸血症合并周围血管闭塞症患者给予多种维生素 B 联合治疗 8 周能显著降低血浆 Hcy 水平, 但并不改善血管内皮依赖的舒张功能^[31]。

4.7 天然药物

山酮是广泛存在于植物中的一类多酚类化合物, 具有抗炎和抗氧化作用。我们近期的一系列研究显示^[27, 28, 32, 33], 在离体和体内试验中, 山酮均能保护溶血性磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine, LPC) 或 LDL 诱导的血管舒张功能障碍, 并能降低血浆丙二醛和 ADMA 水平; 在培养的内皮细胞, 山酮也能显著减少 LPC 或 LDL 诱导的乳酸脱氢酶释放和丙二醛生成增加, 并能改善内皮细胞 DDAH 活性、降低培养基 ADMA 水平; 在 ox-LDL 处理的内皮细胞, 山酮能减少培养基 TNF- α 、ADMA 和 MCP-1 的水平, 抑制单核细胞-内皮细胞粘

附的增加。这些研究结果表明, 山酮能保护高脂诱导的内皮功能不全, 而这种保护作用与其通过抗氧化和抗炎作用提高 DDAH 活性, 降低 ADMA 水平有关。

5 结语

自从 1992 年首次被认为是内源性 NOS 抑制剂以来, 大量的动物和临床研究显示 ADMA 能竞争性抑制 NOS, 阻止 NO 合成, 以及增加自由基生成和参与血管炎症反应, 其水平升高是导致多种心血管疾病内皮功能不全的关键因素之一; ADMA 可能是一个新的心血管疾病危险因子, 并可能作为预测心血管疾病临床事件的发生及死亡率的指标。随着人们对 ADMA 在心血管疾病中的作用及其机制的不断认识, 以及药物干预 ADMA 水平能显著改善内皮功能, 干预 ADMA 可能是寻找防治心血管疾病药物的新途径。

[参考文献]

- [1] Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (9): 2 032-037
- [2] 熊燕, 李元建. 内源性一氧化氮合酶抑制剂: 一种新的内皮功能不全预测因子. *中国药理学与毒理学杂志*, 2000, **14** (3): 161-166
- [3] Boger RH, Bode-Boger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **36** (7): 2 287-295
- [4] Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 1999, **99** (24): 3 092-095
- [5] Chan JR, Boger RH, Bode-Boger SM, Tangphao O, Tsao PS, Blaschke TF, et al. Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (4): 1 040-046
- [6] Boger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res*, 2003, **59** (4): 824-833
- [7] Lu TM, Ding YA, Lin SJ, Lee WS, Tai HC. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*, 2003, **24** (21): 1 912-919
- [8] 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** (1): 17-22
- [9] Osanai T, Saitoh M, Sasaki S, Tomita H, Matsunaga T, Okumura K. Effect of shear stress on asymmetric dimethylarginine release from vascular endothelial cells. *Hypertension*, 2003, **42** (5): 985-990
- [10] Dayoub H, Achan V, Adimoolam S, Jacobi J, Stuehlinger MC, Wang BY, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation*, 2003, **108** (24): 3 042-047
- [11] Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atheroscler Suppl*, 2003, **4** (4): 33-40
- [12] 杨永宗, 杨和平, 戴爱国, 陈颜芳, 易光辉, 万腊香, 等. L-精氨酸/一氧化氮抗动脉粥样硬化的作用及机制. *中国动脉硬化杂志*, 1997, **5** (3): 258-264
- [13] Ito A, Egashira K, Narishige T, Muramatsu K, Takeshita A. Renin-angiotensin system is involved in the mechanism of increased serum asymmetric dimethylarginine in essential hypertension. *Jpn Circ J*, 2001, **65** (9): 775-778
- [14] Ito A, Egashira K, Narishige T, Muramatsu K, Takeshita A. Angiotensin converting enzyme activity is involved in the mechanism of increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circ J*, 2002, **66** (9): 811-815
- [15] Chen JW, Hsu NW, Wu TC, Lin SJ, Chang MS. Long-term angiotensin converting enzyme inhibition reduces plasma asymmetric dimethylarginine and improves endothelial nitric oxide bioavailability and coronary microvascular function in patients with syndrome X. *Am J Cardiol*, 2002, **90** (9): 974-982
- [16] Jiang JL, Zhu HQ, Xu HY, Chen Z, Li YJ. Angiotensin converting enzyme inhibitor prevents LDL-induced endothelial dysfunction by inhibition of asymmetric dimethylarginine. *Int J Cardiol*, 2004, 印刷中
- [17] Li XP, Zhou Y, Zhao SP, Gao M, Zhou QC, Li YS. Effect of endogenous es-

- trogen on endothelial function in women with coronary heart disease and its mechanism. *Clin Chim Acta*, 2004, **339** (1-2): 183-188
- [18] Post MS, Verhoeven MO, van der Mooren MJ, Kenemans P, Stehouwer CD, Teerlink T. Effect of hormone replacement therapy on plasma levels of the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine: a randomized, placebo-controlled 12-week study in healthy early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, **88** (9): 4 221-226
- [19] Teerlink T, Neele SJ, de Jong S, Netelenbos JC, Stehouwer CD. Oestrogen replacement therapy lowers plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in healthy postmenopausal women. *Clin Sci (Lond)*, 2003, **105** (1): 67-71
- [20] Holden DP, Cartwright JE, Nussey SS, Whitley GS. Estrogen stimulates dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and the metabolism of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 2003, **108** (13): 1 575-580
- [21] Dai Z, Zhu HQ, Jiang DJ, Jiang JL, Deng HW, Li YJ. 17 β -Estradiol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Int J Cardiol*, 2004, **96** (2): 223-227
- [22] Asagami T, Abbasi F, Stuelinger M, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP, et al. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism*, 2002, **51** (7): 843-846
- [23] Stuhlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA*, 2002, **287** (11): 1 420-426
- [24] Stuhlinger MC, Tsao PS, Kimoto M. Homocysteine induced accumulation of asymmetric dimethylarginine: role of DDAH and effect of antioxidants. *Circulation*, 2000, **102** (Suppl): II-177
- [25] Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, et al. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 2002, **106** (8): 987-992
- [26] Jiang JL, Li NS, Li YJ, Deng HW. Probucol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Br J Pharmacol*, 2002, **135** (5): 1 175-182
- [27] Jiang DJ, Hu GY, Jiang JL, Xiang HL, Deng HW, Li YJ. Relationship between protective effect of xanthone on endothelial cells and endogenous nitric oxide synthase inhibitors. *Bioorg Med Chem*, 2003, **11** (23): 5 171-177
- [28] Jiang DJ, Jiang JL, Tan GS, Huang ZZ, Deng HW, Li YJ. Demethylbelidifolin inhibits adhesion of monocytes to endothelial cells via reduction of tumor necrosis factor alpha and endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Planta Med*, 2003, **69** (12): 1 150-152
- [29] Achan V, Tran CT, Arrigoni F, Whitley GS, Leiper JM, Vallance P. all-trans-Retinoic acid increases nitric oxide synthesis by endothelial cells: a role for the induction of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ Res*, 2002, **90** (7): 764-769
- [30] Holven KB, Haugstad TS, Holm T, Aukrust P, Ose L, Nenseter MS. Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinemic subjects. *Br J Nutr*, 2003, **89** (3): 359-363
- [31] Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Boger SM, Tsikas D, Hornig B, et al. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res*, 2003, **57** (1): 244-252
- [32] Jiang DJ, Jiang JL, Tan GS, Du YH, Xu KP, Li YJ. Protective effects of darviditin A against endothelial damage induced by lysophosphatidylcholine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2003, **367** (6): 600-606
- [33] Jiang DJ, Jiang JL, Zhu HQ, Tan GS, Liu SQ, Xu KP, et al. Demethylbelidifolin preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *J Ethnopharmacol*, 2004, **93** (2-3): 295-306