

# Biomarcadores de função endotelial em doenças cardiovasculares: hipertensão

## *Biomarkers of endothelial function in cardiovascular diseases: hypertension*

Josynaria Araújo Neves<sup>1</sup>, Josyanne Araújo Neves<sup>1</sup>, Rita de Cássia Meneses Oliveira<sup>1</sup>

### Resumo

A incidência de hipertensão arterial sistêmica está aumentando mundialmente. Sua prevenção baseia-se na identificação dos hipertensos. Atualmente, biomarcadores são utilizados com fins de diagnosticar, estratificar e prognosticar doenças. Neste estudo, objetivou-se revisar artigos dos últimos cinco anos relacionados a biomarcadores nas doenças cardiovasculares. Pesquisaram-se dados de PubMed, SciELO, Science Direct e MEDLINE, mediante as palavras-chave: hipertensão arterial, biomarcadores cardiovasculares, óxido nítrico, função endotelial e dimetilarginina assimétrica. Os estudos levantados mostram que as doenças cardiovasculares possuem uma etiologia complexa. Neste artigo, evidenciaram-se interações entre o óxido nítrico e a dimetilarginina assimétrica na regulação, no metabolismo e na determinação dos níveis intracelulares, e reviram-se outros biomarcadores relacionados à hipertensão. Alguns estudos indicam os biomarcadores como uma ferramenta útil na predição de eventos cardíacos, e outros reportam que eles contribuem pouco para a avaliação. A seleção e combinação desses pode ser uma alternativa para validar o uso dos biomarcadores devido à pouca especificidade existente para diagnosticar a hipertensão.

**Palavras-chave:** biomarcadores; hipertensão; função endotelial; ADMA.

### Abstract

The incidence of systemic arterial hypertension is increasing worldwide. The foundation of prevention is identification of people with hypertension. Nowadays, biomarkers are used to diagnose and stratify diseases and estimates prognosis. The objective of this study was to review articles published over the last 5 years on the subject of biomarkers of cardiovascular diseases. The PubMed, SciELO, Science Direct and MEDLINE databases were searched using the keywords: arterial hypertension, cardiovascular biomarkers, nitric oxide, endothelial function and asymmetric dimethylarginine. The studies reviewed show that cardiovascular diseases have complex etiologies. This article describes evidence demonstrating interactions between nitric oxide and asymmetric dimethylarginine that are involved in regulation, in metabolism, and in determination of intracellular levels, and also discusses other biomarkers related to hypertension. Some studies indicate that biomarkers are useful tools for prediction of cardiac events, whereas others state that they have little to contribute to assessments. Careful selection of tests and combinations of tests may be the key to validating use of biomarkers, in view of their low specificity for diagnosing hypertension.

**Keywords:** biomarkers; hypertension; endothelial function; ADMA.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Piauí – UFPI, Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais – NPPM, Teresina, PI, Brasil.

Fonte de financiamento: Nenhuma.

Conflito de interesse: Os autores declararam não haver conflitos de interesse que precisam ser informados.

Submetido em: Março 02, 2016. Aceito em: Julho 28, 2016.

O estudo foi realizado na Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brasil.

## ■ INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) constitui um problema de saúde pública grave em virtude de sua dimensão, risco e dificuldades no controle, e está relacionada a uma elevada taxa de mortalidade por promover o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs)<sup>1</sup>. As DCVs atingem mais de 83,6 milhões de norte-americanos e, no Brasil, o Ministério da Saúde verificou a ocorrência de 326 mil casos de morte por essas doenças, o que corresponde a cerca de 1.000 mortes por dia em 2010<sup>2</sup>.

De acordo com Georgiopoulou et al.<sup>3</sup>, a incidência de HAS aumentou globalmente. Para Durande e Guterman<sup>4</sup>, as células endoteliais incorporam uma gama de funções homeostáticas. Tem sido sugerido que a disfunção do endotélio vascular associado à HAS está relacionada com uma inflamação local e sistêmica<sup>5</sup>. Sabe-se que a inflamação é uma resposta fisiológica protetora a estímulos nocivos e/ou patogênicos, e que a disfunção endotelial é um estado pró-inflamatório, com alteração nas funções do endotélio, e está associada à HAS, uma doença multifacetada.

Entre os fatores patológicos, podem-se citar os radicais livres, que promovem lesão tecidual e disfunção endotelial por perturbarem o equilíbrio do óxido nítrico (NO), causando elevado estresse oxidativo, elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral alfa - TNF- $\alpha$ ; interleucinas - IL-6 e IL-1 $\beta$ ) e a produção excessiva de quimiocinas inflamatórias [macrófago inflamatório proteína alfa-1 (MIP-1 $\alpha$ ) e quimioatratador proteína-1 (MCP-1)]<sup>6,7</sup>.

A patologia HAS constitui um fator de risco relacionado à alta morbidade e mortalidade por contribuir para o agravamento de outras DCVs e doenças renais<sup>8</sup>. Assim, a HAS está nitidamente associada ao desenvolvimento de lesões vasculares e ao aparecimento de disfunções em órgãos-alvo como cérebro, coração, vasos sanguíneos e rins<sup>9</sup>, levando a complicações como: acidente vascular encefálico, infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica, doença arterial coronariana e doença renal crônica.

Os biomarcadores são comumente empregados na medicina clínica de DCVs tanto para diagnosticar e estratificar os riscos como também para prognosticar tais patologias<sup>10</sup>. Como exemplo do uso de biomarcadores, pode-se citar a dosagem de osteoprotegerina em casos de insuficiência cardíaca, que pode estar relacionada à HAS em decorrência de ser a causa da hipertrofia do miocárdio<sup>11</sup>.

Objetivou-se por meio do presente estudo revisar na literatura artigos científicos relacionados ao tema HAS e biomarcadores. Durante os últimos 10 anos, a dimetilarginina assimétrica (ADMA) vem se destacando como um biomarcador cardiovascular promissor. Nesse contexto, buscou-se relatos de ADMA no plasma como um novo biomarcador de risco cardiovascular putativo, como na hipertensão, assim como de contribuições da incorporação de outros modelos de biomarcadores, como células progenitoras de endotélio, troponina T, vitamina D e ácido úrico.

Assim, foi realizada uma revisão da literatura atual utilizando referências bibliográficas buscadas nas bases de dados PubMed, SciELO, Science Direct, e MEDLINE, publicadas durante o período de 2010 a 2015, por meio da utilização e combinação das seguintes palavras-chave: hipertensão arterial, biomarcadores cardiovasculares, óxido nítrico, função endotelial e dimetilarginina assimétrica. Foram pesquisados, também, os mesmos termos no idioma inglês.

## ■ PRESSÃO ARTERIAL E HIPERTENSÃO

A pressão arterial (PA) pode ser definida como a força exercida pelo sangue por unidade de área da parede vascular. Essa pressão gerada pelo coração é a força (energia potencial) que permite a ocorrência do fluxo sanguíneo e a perfusão sanguínea nos tecidos. Por intermédio do fluxo circulatório, são fornecidos aos órgãos e tecidos quantidades de oxigênio conforme a necessidade e retiram-se os metabólitos resultantes da atividade celular. Dessa forma, a manutenção de uma pressão adequada é fundamental para que ocorra o bom funcionamento do sistema circulatório.

A fisiopatologia da HAS implica em entender os mecanismos de controle da PA, cuja regulação depende de ações integradas entre os sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino, e de fatores físicos como força contrátil do coração e elasticidade das grandes artérias torácicas. De acordo com Franceschini et al.<sup>8</sup>, a manutenção da PA dentro de uma faixa de normalidade depende de variações no débito cardíaco e na resistência periférica, com inúmeras substâncias e sistemas fisiológicos interagindo de maneira complexa para garantir uma PA em níveis adequados nas mais diversas situações.

A HAS é uma desordem circulatória<sup>12</sup>. Essa condição clínica multifatorial está associada a alterações metabólicas e funcionais/estruturais dos órgãos-alvos (coração, rins e vasos sanguíneos), caracterizada por níveis elevados e sustentados de PA, geralmente acima da meta (nível pressórico sistólico  $\geq 140$  mmHg e/ou nível pressórico diastólico  $\geq 90$  mmHg)<sup>13,14</sup>.

A HAS, ou o aumento da PA, é reconhecida como um importante fator de risco para a morbidade e mortalidade cardiovascular<sup>15,16</sup>, mesmo com o uso concomitante de medicamentos anti-hipertensivos.

A literatura reporta alguns fatores ambientais relacionados com a progressão, evolução e complicações nas patologias cardiovasculares, e entre esses fatores incluem-se o tabagismo, a obesidade, o sedentarismo e outros. A combinação desses fatores entre indivíduos hipertensos parece variar com a idade, a inatividade física, a hiperglicemia e a dislipidemia, sendo que a obesidade aumenta a prevalência da associação de múltiplos fatores de risco<sup>14</sup>. Lima et al.<sup>17</sup>, em estudo com pacientes brasileiros submetidos a revascularização miocárdica, concluiu que a hipertensão arterial, a obesidade e o sedentarismo foram os fatores mais frequentemente encontrados, e que 79,5% dos pacientes apresentaram, no mínimo, três fatores de risco. Observou-se ainda que os fatores que promovem alterações na PA vêm ocorrendo em faixa etária cada vez mais baixa<sup>18</sup>.

Diante do exposto, Nobre et al.<sup>19</sup> ressaltam que a gênese da hipertensão compreende aspectos genéticos, ambientais, vasculares e neurais. A hiperatividade do sistema nervoso simpático é proposta como um importante mecanismo de hipertensão e DCV<sup>20</sup>.

Determinantes sociais, como urbanização, renda, envelhecimento e educação, influenciam o desenvolvimento dessa patologia<sup>12</sup>. Portanto, para prevenção da HAS, alterações no estilo de vida são recomendadas pelas diretrizes nacionais e internacionais, que nos últimos anos vêm se fortalecendo devido ao aumento da sobrevida dos pacientes com doenças crônicas<sup>15</sup>.

Entre os mecanismos fisiopatológicos da HAS, podemos citar o papel do endotélio vascular.

## ■ ENDOTÉLIO E ALTERAÇÕES FISIOPATOLÓGICAS

As células endoteliais, em condições fisiológicas, são controladas por fatores hemodinâmicos, como PA e fluxo sanguíneo, que levam a uma resposta dependente da produção de mediadores químicos, e que produzem modificações no fluxo sanguíneo<sup>21</sup>. Essas células desempenham um papel fundamental na regulação do tônus vascular através da síntese e liberação de fatores de relaxamento e contração envolvidos na homeostase cardiovascular<sup>22</sup>.

De acordo com Dias et al.<sup>23</sup>, os principais fatores relaxantes derivados do endotélio são o NO, o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>). Entre os fatores contráteis,

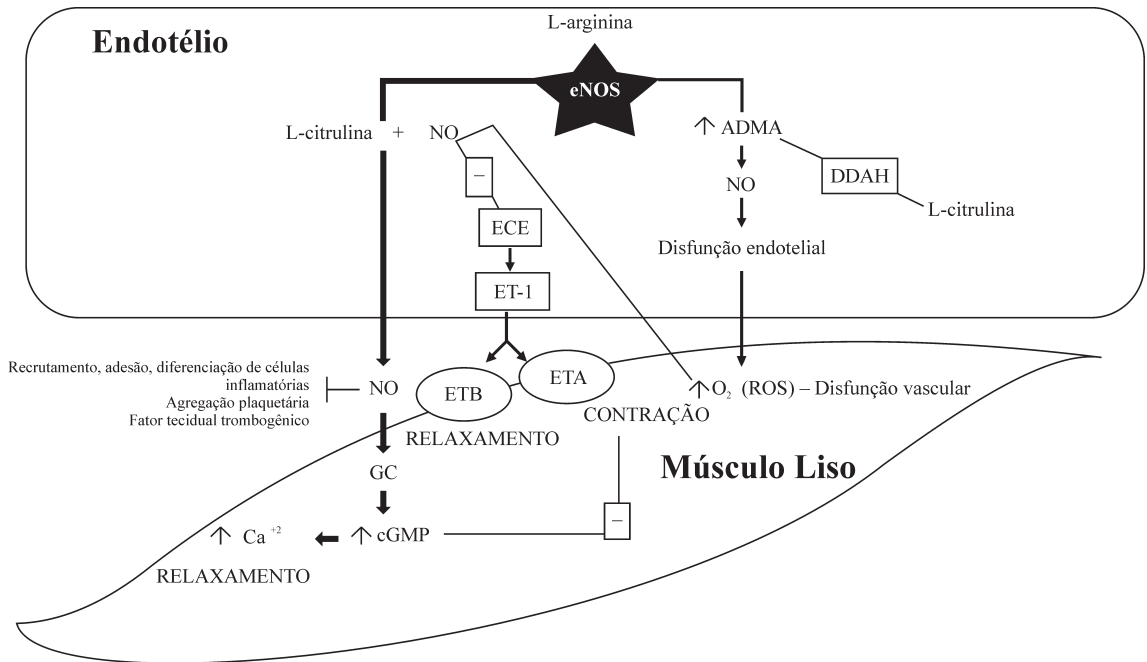
os principais são a prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), a tromboxana A<sub>2</sub>, a angiotensina II (Ang II), as espécies reativas de oxigênio (ROS) e a endotelina (ET-1).

O endotélio é um órgão com múltiplas funções. A habilidade endotelial de modular o lúmen vascular pela regulação do tônus vascular (controle da dilatação e da contração local) ou pela liberação de fatores vasoativos é uma das principais respostas aos estímulos fisiológicos gerados pelo fluxo e pela pressão sanguínea<sup>24-27</sup>.

Na hipertensão, o complexo mecanismo de elevação da PA pela deficiência de NO envolve acentuação do tônus do sistema simpático, do sistema renina-angiotensina (RAS) e do estresse oxidativo<sup>28,29</sup>. Todas as células, incluindo as endoteliais, possuem complexos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, que atuam sinergicamente para defender o organismo de danos causados pelos radicais livres<sup>30</sup>.

O NO é um radical livre inorgânico, gasoso, altamente reativo e produzido a partir da oxidação do aminoácido L-arginina, que se converte em L-citrulina<sup>23</sup>. O NO é gerado a partir da L-arginina pela ação de NO-sintase endotelial, na presença de cofatores. Uma vez que ele é produzido, difunde-se para células musculares lisas vasculares e ativa a guanilato-ciclase (GC), o que leva à vasodilatação mediada pela liberação do segundo mensageiro guanosina monofosfato cíclico (cGMP) e à ativação da proteína quinase G-dependente, resultando na diminuição da concentração de cálcio intracelular, seguida por vasorrelaxamento. Além disso, há muitas outras funções do NO que participam da regulação de transcrição de genes, tradução de mRNA e modificação proteica de várias enzimas envolvidas na respiração mitocondrial, na mitogênese e no crescimento<sup>31</sup>. O sistema de sinalização NO e cGMP é um modulador bem caracterizado da função cardiovascular, em geral, e da PA, em particular<sup>32</sup> (Figura 1).

Existem três isoformas da enzima responsável pela síntese de óxido nítrico (NOS). A forma neuronal (nNOS), encontrada nos neurônios e ativada por cálcio, a forma induzível (iNOS), estimulada por citocinas inflamatórias, produtos microbianos e perturbação mecânica<sup>33</sup>, e a enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), localizada no cromossomo 7 (7q35-36), são responsáveis pela síntese de NO na circulação sanguínea, com capacidade vasoprotetora e vasodilatadora<sup>34</sup>. Além de inibirem a proliferação das células musculares lisas, impedem o recrutamento, a adesão e a diferenciação de células inflamatórias, a agregação plaquetária e a produção do fator tecidual trombogênico<sup>21,35</sup>.



**Figura 1.** Sinalização endotelial e mecanismo de relaxamento ou contração do músculo liso. eNOS: enzima óxido nítrico sintase endotelial; NO: óxido nítrico; GC: guanilato-ciclase; cGMP: guanosina monofosfato cíclico; Ca<sup>2+</sup>: íons de cálcio; ECE: enzima de conversão da endotelina; ET-1: endotelina 1; ETA, ETB: receptores das endotelinas – ETA e ETB em células de músculo liso vascular; O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>: radicais livres; ROS: espécies reativas de oxigênio; ADMA: dimetilarginina assimétrica; DDAH: dimetilarginina-dimetilamino-hidrolase.

A atividade de eNOS e de nNOS é dependente do complexo cálcio/calmodulina (Ca<sup>2+</sup>/CaM). Desse modo, ela é controlada pela variação de concentração de cálcio intracelular, que é um importante sinalizador citoplasmático. A iNOS independe do aumento das concentrações intracelulares de Ca<sup>2+</sup>, segundo Forsterman e Sessa<sup>31</sup>, sendo expressa em processos celulares anormais induzidos e/ou estimulada por citocinas, agentes inflamatórios e perturbação mecânica, resultando em alto fluxo de NO<sup>23,34</sup>.

## BIOMARCADORES DE NO/ADMA

Defeitos na função endotelial e na produção de NO foram associados com aterosclerose, hipertensão, diabetes, obesidade, sedentarismo, tabagismo, idade avançada, baixa biodisponibilidade de L-arginina e presença de agentes infecciosos<sup>36</sup>.

Estudos com metabólitos do NO, como nitrito/nitrato (NO<sub>x</sub>), mostram que eles atuam monitorando o estado de saúde de pacientes com DCVs e podem ser utilizados no campo clínico como biomarcadores<sup>37</sup>. Rajendran et al.<sup>38</sup> corroboram essa abordagem sobre biomarcadores, pois avaliaram a função endotelial baseados na medição dos biomarcadores endoteliais circulantes no plasma, uma vez que existem muitos candidatos atrativos para biomarcadores endoteliais. No entanto, os autores ressaltam que, em muitas

patologias, essas moléculas possuem uma fraca seletividade e especificidade. Assim, se forem utilizadas individualmente, têm um baixo valor preditivo.

Considerando que a produção de NO foi associada à baixa biodisponibilidade de L-arginina<sup>36</sup> e que este substrato é análogo à ADMA, estudos sugerem que a razão L-arginina/ADMA tem reflexo direto na biodisponibilidade de NO<sup>39</sup>. No plasma de indivíduos saudáveis, a relação L-arginina/ADMA é de aproximadamente 100:1, segundo Sharma et al.<sup>40</sup>. Porém, em uma situação fisiopatológica, a ADMA apresenta concentrações aumentadas quando comparada à L-arginina; dessa maneira, a ADMA pode atuar inibindo competitivamente a eNOS, uma vez que inibe a formação de NO e, conseqüentemente, reduz a síntese desse substrato<sup>41</sup>. Assim, os níveis elevados de ADMA podem inibir a síntese de NO, prejudicando a função endotelial.

Os níveis plasmáticos elevados de ADMA têm sido relatados em pacientes com fatores de risco vascular, possuindo valor preditivo para eventos cardio e cerebrovasculares, sendo que Nishiyama et al.<sup>42</sup> destacaram a ADMA como um biomarcador da hipertensão arterial. Com base nesta pesquisa bibliográfica, ressalta-se o déficit de estudos sobre os efeitos dos níveis intracelulares de ADMA na hipertensão nos últimos cinco anos.

Estudos revelaram ainda que níveis elevados de ADMA reduzem a participação do NO na regulação do tônus vascular por atuarem na inibição direta da eNOS e na diminuição da biodisponibilidade desta pelo aumento da produção e liberação de ROS através da ativação do RAS, levando a uma disfunção vascular em vasos arteriais isolados *in vitro*<sup>41</sup>.

Evidências sugerem que o desequilíbrio nos níveis de NO e ROS (diminuição e aumento, respectivamente) ativa o sistema nervoso simpático, mecanismo que parece estar envolvido nos aspectos neurogênicos da hipertensão<sup>43</sup>. Desse modo, a ADMA pode servir como um biomarcador, indicando a redução da biodisponibilidade do NO<sup>41</sup>.

### ■ BIOSÍNTESE DE ADMA

O substrato ADMA é formado depois da proteólise de proteínas contendo resíduos de arginina metilados. Essa metilação é facilitada pela enzima metiltransferase (PRMTs), que utiliza a proteína S-adenosilmetionina (SAM) como o grupo doador de metilo<sup>44</sup>. Sabe-se que existem dois tipos de PRMTs, de acordo com a atividade catalítica específica: tipo 1, que catalisa a formação de ADMA e NG-monometil-L-arginina (L-NMMA); e tipo 2, que catalisa a formação de dimetilarginina simétrica (SDMA) e L-NMMA (Figura 2).

Atualmente, destaca-se a ADMA degradada pela dimetilarginina-dimetilamino-hidrolase (DDAH)<sup>45</sup>, constituída de duas isoformas (DDAH-1 e DDAH-2).

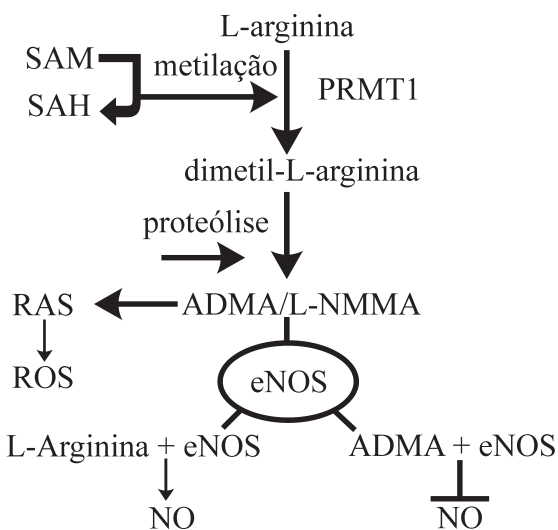


Figura 2. Via da ADMA e sua relação com o NO. ADMA: dimetilarginina assimétrica; SAM: sadenosilmetionina; SAH: S-adenosil; PRMT1: enzima metiltransferase tipo 1; SDMA: dimetilarginina simétrica; L-NMMA: NG-monometil-L-arginina; RAS: sistema renina-angiotensina; ROS: espécies reativas de oxigênio; eNOS: enzima óxido nítrico sintase endotelial; NO: síntese de óxido nítrico.

A degradação da ADMA pela isoforma enzimática DDAH-1 ocorre nos tecidos<sup>46</sup>, sendo proposto que a modulação da atividade DDAH-1 através dos agonistas do receptor farnesoid X (FXR), a exemplo 3-(2,6-diclorofenil)-4-(3'-carboxi-2-chlorostilben-4-il)-oximetil-5-isopropylisoxazole (GW4064), pode ser utilizada como um alvo terapêutico para o tratamento de insuficiência cardíaca congestiva e outras DCVs<sup>47</sup>.

Para Caplin et al.<sup>48</sup>, 80 a 90% de ADMA é metabolizada principalmente por DDAHs. Uma via alternativa ocorre por alanina-aminotransferase 2 glioxilato (AGXT2) no rim<sup>49</sup>. A ADMA, por acumular-se no plasma, pode ser considerada um fator patofisiológico de DCVs e também renais.

Segundo Davids et al.<sup>50</sup>, é preciso ter em mente que os níveis circulantes de ADMA, em alguns casos, refletem as concentrações intracelulares. Contudo, esses níveis não estão em equilíbrio<sup>51</sup>.

Em pacientes cardíacos, de acordo com Nemeth et al.<sup>45</sup>, níveis elevados de ADMA no líquido pericárdico podem indicar mecanismos fisiopatológicos importantes, como a redução da biodisponibilidade do NO, contribuindo para o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca e remodelação. Assim, os autores propõem que a análise desse líquido pode ser uma ferramenta de diagnóstico por interferir no conteúdo e nos efeitos do líquido pericárdico, abrindo novas opções terapêuticas para modificar benéficamente a função e a estrutura cardíaca.

Sabe-se que a ADMA foi identificada como um fator de risco para a disfunção endotelial que age em várias DCVs acelerando a progressão<sup>52</sup>. Estudos recentes em pacientes com doença renal crônica (DRC) sugerem uma relação ou associação entre os níveis de ADMA e o fator de crescimento de fibroblastos 23 (FGF-23), além de uma relação com marcadores de lesão da célula endotelial<sup>53,54</sup>.

Vários estudos que avaliaram biomarcadores convencionais e inovadores para a predição de eventos cardiovasculares foram relatados. Reriani et al.<sup>55</sup> reportam a necessidade de averiguação da utilidade dos biomarcadores putativos na avaliação do risco cardiovascular, quando comparados com a função endotelial, devido ao pequeno valor incremental de biomarcadores sobre os fatores de risco convencionais. Seria especular que biomarcadores em tais estudos ainda iriam desempenhar um papel mínimo na estratificação de risco cardiovascular.

### ■ OUTROS BIOMARCADORES

Na Tabela 1, foram apresentados alguns biomarcadores amplamente conhecidos. Segundo Hirata et al.<sup>56</sup>, vários marcadores já foram citados na literatura sobre a disfunção endotelial vascular, como insulina,

Tabela 1. Alguns marcadores dosados apresentam relação com o risco cardíaco.

Categoria	Biomarcador	Efeitos
Inflamação vascular	PCR* (proteína)	-Promove disfunção endotelial por suprimir diretamente a produção de NO <sup>†</sup> -Ativação do RAS <sup>‡</sup> -Aumento dos níveis de PCR foram associados com risco aumentado de hipertensão
	IL-6 <sup>§</sup> , IL-1 <sup>  </sup> , TNF- $\alpha$ <sup>¶</sup> , MCP-1 <sup>**</sup> (citocina)	-IL-6 se correlaciona positivamente com as pressões sistólica e diastólica -A concentração de IL-6 e PCR coincide com aumento do IMC <sup>††</sup> , de lipídeos e de outros fatores de risco relacionados com a aterosclerose
Estresse miocárdico	BNP <sup>‡‡</sup> e NT-proBNP <sup>§§</sup> (neuro-hormônio)	-Dilatação ventricular e sobrecarga de pressão na parede miocárdica -Aumento da taxa de filtração glomerular -Aumento da excreção de água e sódio
Estresse oxidativo e função renal	Homocisteína	-Aumento da homocisteína no plasma como um marcador de risco cardiovascular associado a idade, colesterol e hipertensão
Potencial fibrinolítico	PAI-1 <sup>    </sup>	- Inibidor de serino-protease produzido por células endoteliais - Aumento dos níveis de PAI-1 em indivíduos hipertensos como resultado da indução do cisalhamento e/ou ativação endotelial

\* PCR: proteína C-reativa. † NO: óxido nítrico. ‡ RAS: sistema renina-angiotensina. § IL-6: interleucina-6. || IL-1: interleucina-1. ¶ TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral- $\alpha$ . \*\* MCP-1: quimioatratador proteína-1. †† IMC: índice de massa corporal. ‡‡ BNP: peptídeo natriurético tipo B. §§ NT-proBNP: pró-BNP. |||| PAI-1: fator ativador de plasminogênio 1.

adiponectina, vasodilatadores (nitrito e nitrato) e vasoconstritores (ROS, endotelina, tromboxana A2). No presente estudo, foram encontradas pesquisas direcionadas para a função endotelial e a investigação de outros possíveis biomarcadores, apresentados a seguir.

### Células Progenitoras de Endotélio (CPEs)

As CPEs são células mononucleares que expressam uma combinação de marcadores endoteliais (VEGFR2) e progenitores (CD34/CD133), com alta capacidade proliferativa, podendo ser isoladas do sangue periférico, medula óssea e sangue do cordão umbilical. Não há um único marcador específico para a identificação dessas células, sendo atualmente o mais aceito a coexpressão de marcadores CD133, CD34 e VEGFR2. Embora esses marcadores não sejam exclusivos de CPE, a sua combinação caracteriza uma célula progenitora específica em relação a um estágio de maturação específico<sup>57,58</sup>.

Descobriu-se que as CPEs auxiliam no processo do reparo endotelial e na formação de novos vasos, o que as condiciona a serem utilizadas como marcador de saúde cardiovascular.

### Troponina T (hs-cTnT)

McEvoy et al.<sup>59</sup> avaliaram a sensibilidade de troponina T (hs-cTnT), um marcador de lesão miocárdica subclínica que pode identificar indivíduos com risco de hipertensão ou hipertrofia ventricular esquerda. Eles concluíram que a hs-cTnT está associada com a incidência de hipertensão e o risco de hipertrofia ventricular esquerda em uma população ambulatorial e sem história de DCV. Contudo, os autores ressaltam

a necessidade de mais pesquisas para determinar se a hs-cTnT pode identificar e beneficiar a monitorização ambulatorial da PA ou hipertensão.

Autores com Bugnicourt et al.<sup>60</sup> e Tu et al.<sup>61</sup> demonstraram que as concentrações de troponina podem prever um novo início de fibrilação atrial, uma vez que está independentemente associada com pior resultado do curso por causa de eventos adversos cardíacos graves. O mecanismo exato pelo qual a fibrilação atrial leva à elevação de hs-TN não é totalmente compreendido e mais estudos são necessários. Contudo, biomarcadores como hs-TNI ou hs-TNT são de fácil manuseio e de menor valor financeiro.

O uso de hs-TN em pacientes que estão em risco muito elevado poderia identificar e, conseqüentemente, receber um tratamento especial com uma maior taxa de controle e uma definição mais rigorosa dos limites de possíveis fatores de risco, como PA, hipercolesterol e diabetes melito<sup>62</sup>. Sabe-se que os valores de hs-TNI são muito sensíveis na identificação de danos no tecido do coração.

### Vitamina D

Os efeitos da vitamina D na homeostase do cálcio e no metabolismo ósseo foram bem ressaltados na literatura. Contudo, estudos mais recentes reportam sua associação a diversos problemas de saúde, como os efeitos sobre a saúde cardiovascular, uma vez que a vitamina D pode interagir com vários mecanismos.

De acordo com os autores Brondum-Jacobsen et al.<sup>63</sup>, Grandi et al.<sup>64</sup>, Sokol et al.<sup>65</sup> e Wang et al.<sup>66</sup>, os níveis de vitamina D podem atuar como biomarcadores em pacientes com DCV.

A principal vitamina D circulante apresenta-se na forma de 25-hvitamina D. Essa forma circulante liga-se diretamente ao receptor da vitamina D (VDR) para exercer os seus efeitos ou pode ser convertida, no rim, por 1  $\alpha$ -hidroxilase a 1,25-di-hidroxivitamina D, também conhecida como hormônio calcitriol<sup>67,68</sup>. Deve-se lembrar que o calcitriol atua através da ligação com a VDR, que está presente no endotélio vascular, o músculo liso vascular e o miocárdio, o que salienta a possibilidade de um efeito biológico direto da vitamina D no sistema cardiovascular. A maioria dos estudos reportam que baixos níveis de 25-hidroxivitamina D estão associados a fatores de risco cardiovascular, como hipertensão, diabetes e inflamação.

### Ácido Úrico (AU)

Atualmente, o AU é uma das condições mais estudadas em relação à HAS. Yanik e Feig<sup>69</sup> demonstraram uma associação entre hiperuricemia e hipertensão arterial, corroborando o uso do nível sérico como um biomarcador para o diagnóstico.

A formação de AU ocorre a partir da quebra de adenosina e guanina via hipoxantina, que se converte em xantina e AU por meio da xantina oxidase<sup>70</sup>. As reações catalisadas por xantina oxidase geram ROS como subprodutos, como o ânion superóxido, que reage com prótons e NO para originar novas ROS. Estas, por sua vez, promovem lesão do endotélio cardiovascular e da microvasculatura<sup>71</sup>.

Mamas et al.<sup>72</sup> ressaltam que a maioria dos biomarcadores não são metabólitos, como as troponinas, que são proteínas. A análise dos metabólitos dos fluidos corporais tornou-se uma parte importante do diagnóstico, prognóstico e avaliação das intervenções terapêuticas na aplicação clínica, uma vez que o metaboloma é o produto final a jusante da transcrição e tradução, e é, portanto, mais próximo do fenótipo.

Atualmente, intensificou-se a busca por biomarcadores metabólitos específicos em tecidos e/ou biofluidos corporais, como o uso da ADMA. Esta é naturalmente um produto do metabolismo humano encontrado na circulação; portanto, inclui-se nos metabólitos dos fluidos corporais. Assim, os biomarcadores que podem ser detectados no soro ou plasma sanguíneo ganharam importância em virtude da sua eficiência em diagnosticar patologias. Contudo, apesar dos avanços, para Zhao et al.<sup>73</sup>, ainda existem limitações tecnológicas, incluindo a falta de um método único para a extensa análise de todo o metaboloma, bibliotecas e bases de dados espectrais limitados, e algumas desvantagens de *software* para o processamento de dados e extração de biomarcadores. Os autores ainda

destacam a necessidade de encontrar um método razoável para análise de metabólitos que possa substituir ou complementar o método tradicional de diagnóstico.

De acordo com Kessler et al.<sup>74</sup>, os recentes avanços na biologia molecular destacam as possibilidades de prevenção e terapia, uma vez que os elevados rendimentos e as estatísticas de genotipagem permitiriam, no futuro, a identificação e intervenção sobre um *loci* genômico, com o potencial de alterar o risco de DCV e, conseqüentemente, aumentar a prevenção e terapia para os indivíduos. Isso corrobora os achados de O'Donnell e Nabel<sup>75</sup>, que, em estudos de associação do genoma (GWAS), descobriram *loci* genéticos associados com DCVs, incluindo biomarcadores sanguíneos.

Segundo Zhao et al.<sup>76</sup>, a maioria dos testes clínicos usam métodos que incluem testes com um único biomarcador, histopatologia e imuno-histoquímica. Os autores também relatam que os métodos de ensaio recentes são, geralmente, pouco específicos e sensíveis para uma doença em particular, e os biomarcadores tradicionais só mudam significativamente após a lesão ou disfunção substancial da doença.

O uso clínico de biomarcadores é prejudicado em adultos com doença cardíaca congênita, sendo o diagnóstico e o acompanhamento do tratamento frequentemente baseados em testes de exercício cardiopulmonar<sup>77</sup>. Além disso, são usadas categorias de risco bastante rudimentares, que foram identificadas há mais de 50 anos<sup>78</sup>.

O biomarcador ideal, no geral, precisa apresentar certas características (confiável, sensível e específico para a doença), mostrar variação mínima e expressar um baixo nível de base nos indivíduos saudáveis e um alto nível na presença das doenças. Além disso, um biomarcador útil deve ser quantificado por métodos simples e relativamente baratos com resultados reprodutíveis em vários laboratórios<sup>79</sup>.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Deve-se ressaltar que as DCVs possuem uma complexa etiologia, envolvendo vários fatores, interações e interrelações para promover os mecanismos fisiológicos. Os esforços para o desenvolvimento do diagnóstico se concentram na identificação de biomarcadores, já que há uma crescente necessidade de criar métodos não invasivos para avaliar, monitorar e ajustar a função endotelial e a hipertensão.

Neste artigo, evidenciou-se um conjunto de interações entre a regulação, o metabolismo e a determinação dos níveis intracelulares de ADMA e da enzima NOS ao desempenharem um papel patogênico nas DCVs.

Também foi observado o papel de outros potenciais marcadores, como a CPE, a troponina T, a vitamina D e o AU. Precisa ser destacado que alguns estudos indicam os biomarcadores como uma predição de eventos cardíacos, enquanto outros reportam que eles contribuem relativamente pouco para a avaliação, especialmente em populações de baixo risco. Outra consideração é quanto à especificidade dos biomarcadores: a seleção e combinação desses é essencial devido à correlação entre os mecanismos de ação, que desperta o interesse da comunidade científica devido à redução do risco cardiovascular, podendo ser uma alternativa para validar o teste devido à pouca especificidade para o diagnóstico da hipertensão.

## REFERÊNCIAS

- Gama H, Damasceno A, Silva-Matos C, Diogo D, Azevedo A, Lunet N. Low prevalence of hypertension with pharmacological treatments and associated factors. *Rev Saude Publica*. 2013;47(2):301-8. PMID:24037357. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-910.2013047004328>.
- Simão AF, Prêcoma DB, Andrade JP, et al. I Diretriz Brasileira de prevenção cardiovascular. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(6, Supl. 2):1-63. PMID:24554026. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20135012>.
- Georgiopolou VV, Kalogeropoulos AP, Butler J. Heart failure in hypertension: prevention and treatment. *Drugs*. 2012;72(10):1373-98. PMID:22747449. <http://dx.doi.org/10.2165/11631100-000000000-00000>.
- Durand ML, Gutterman DD. Diversity in mechanisms of endothelium-dependent vasodilation in health and disease. *Microcirculação*. 2013;20(3):239-47. PMID:23311975. <http://dx.doi.org/10.1111/micc.12040>.
- Dharmashankar K, Widlansky ME. Vascular endothelial function and hypertension: insights and directions. *Curr Hypertens Rep*. 2010;12(6):448-55. PMID:20857237. <http://dx.doi.org/10.1007/s11906-010-0150-2>.
- Collier P, Watson CJ, Voon V, et al. Can emerging biomarkers of myocardial remodelling identify asymptomatic hypertensive patients at risk for diastolic dysfunction and diastolic heart failure? *Eur J Heart Fail*. 2011;13(10):1087-95. PMID:21719449. <http://dx.doi.org/10.1093/eurjhf/hfr079>.
- Krebs C, Fraune C, Schmidt-Haupt R, et al. CCR5 deficiency does not reduce hypertensive end-organ damage in mice. *Am J Hypertens*. 2012;25(4):479-86. PMID:22258337. <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2011.243>.
- Franceschini N, Reiner AP, Heiss G. Recent findings in the genetics of blood pressure and hypertension traits. *Am J Hypertens*. 2011;24(4):392-400. PMID:20948529. <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2010.218>.
- Nascimento LR, Molina MCB, Faria CP, et al. Reproducibility of arterial pressure measured in the ELSA-Brasil with 24-hour pressure monitoring. *Rev Saude Publica*. 2013;47(Suppl 2):113-21. PMID:24346728. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047003825>.
- Mamas M, Dunn WB, Neyes L, Goodacre R. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol*. 2011;85(1):5-17. PMID:20953584. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-010-0609-6>.
- Lopez B, Gonzalez A, Lindner D, et al. Osteopontin-mediated myocardial fibrosis in heart failure: a role for lysyl oxidase? *Cardiovasc Res*. 2013;99(1):111-20. PMID:23619422. <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvt100>.
- World Health Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: WHO; 2011.
- Sociedade Brasileira de Hipertensão. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010 [citado em 2016 mar 02];95(1):1-41. [http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2010/Diretriz\\_hipertensao\\_associados.pdf](http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2010/Diretriz_hipertensao_associados.pdf)
- Sociedade Brasileira de Cardiologia; Sociedade Brasileira de Hipertensão; Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010;5(Supl.1):1-51.
- World Health Organization. A global brief on hypertension: silent killer, global public health crisis. Geneva: WHO; 2013.
- Martins LC, Figueiredo VN, Quinaglia T, et al. Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness. *J Hum Hypertens*. 2011;25(9):532-8. PMID:20927128. <http://dx.doi.org/10.1038/jhh.2010.95>.
- Lima FAT, Araújo TL, Lopes MVO, Silva LF, Monteiro ARM, Oliveira SKP. Fatores de risco da doença coronariana em pacientes que realizaram revascularização miocárdica. *Rev Rene*. 2012 [citado em 2016 mar 02];13:853-60. <http://www.revistarene.ufc.br/revista/index.php/revista/article/viewFile/1080/pdf>
- Anyagbun EI, Dharnidharka VR. Hypertension in the Teenager. *Pediatr Clin North Am*. 2014;61(1):131-51. PMID:24267462. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2013.09.011>.
- Nobre F, Coelho EB, Lopes PC, Geleilete TJM. Hipertensão arterial sistêmica primária. *Medicina*. 2013 [citado em 2016 mar 02];46:256-272. [http://revista.fmrp.usp.br/2013/vol46n3/rev\\_Hipertens%E3%20arterial%20sist%EAmica%20prim%E1ria.pdf](http://revista.fmrp.usp.br/2013/vol46n3/rev_Hipertens%E3%20arterial%20sist%EAmica%20prim%E1ria.pdf)
- Grassi G. Sympathetic neural activity in hypertension and related diseases. *Am J Hypertens*. 2010;23(10):1052-60. PMID:20651696. <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2010.154>.
- Prati C, Demougeot C, Guillot X, Godfrin-Valnet M, Wendling D. Endothelial dysfunction in joint disease. *Joint Bone Spine*. 2014;81(5):386-91. PMID:24565889. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2014.01.014>.
- Pereira AC, Paulo M, Araújo AV, Rodrigues GJ, Bendhack LM. Nitric oxide synthesis and biological functions of nitric oxide released from ruthenium compounds. *Braz J Med Biol Res*. 2011;44(9):947-57. PMID:21755266. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2011007500084>.
- Dias RG, Negrão CE, Krieger MH. Óxido nítrico y sistema cardiovascular: activación celular, reactividad vascular y variante genética. *Arq Bras Cardiol*. 2011 [citado em 2016 mar 02];96(1):68-75. [http://www.scielo.br/pdf/abc/v96n1/es\\_v96n1a12](http://www.scielo.br/pdf/abc/v96n1/es_v96n1a12) PMID:21308339.
- Ando J, Yamamoto K. Effects of shear stress and stretch on endothelial function. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(5):1389-403. PMID:20854012. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2010.3361>.
- Ferreira LB, Albuquerque AAS, Celotto AC. Fator hiperpolarizante derivado do endotélio e doenças cardiovasculares. *Rev Soc Cardiol*. 2011;21:40-5.
- Melo JB, Figueiredo JAF No, Campos RCA, Meireles MF, Costa ECC, Leal MCM. Estudo da função endotelial no Brasil: prevenção de doenças cardiovasculares. *Rev Bras Cardiol*. 2014;27:616-23.
- Menezes IAC, Santos MRV, Cunha CLP. O índice de perfusão da oximetria de pulso na avaliação da função endotelial na aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2014;102:237-44. PMID:24676228.
- Dillenburg DR, Mostarda C, Moraes-Silva IC, et al. Resveratrol and grape juice differentially ameliorate cardiovascular autonomic



- modulation in L-NAME-tread rats. *Auton Neurosci*. 2013;179(1-2):17. PMID:23810687. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autneu.2013.06.002>.
29. Nakmareong S, Kukongviriyapan U, Pakdeechote P, et al. Tetrahydrocurcumin alleviates hypertension, aortic stiffening and oxidative stress in rats with nitric oxide deficiency. *Hypertens Res*. 2012;35(4):418-25. PMID:22072109. <http://dx.doi.org/10.1038/hr.2011.180>.
  30. Lee S, Park Y, Zuidema MY, Hannink M, Zhang C. Effects of interventions on oxidative stress and inflammation of cardiovascular diseases. *World J Cardiol*. 2011;26(1):18-24. PMID:21286214. <http://dx.doi.org/10.4330/wjc.v3.i1.18>.
  31. Forstermann U, Sessa WC. Nitric synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-37, 837a-837d. PMID:21890489. <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>.
  32. Arora AR, Demarco VG, Jia G, et al. The role of tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone system in the development of endothelial dysfunction and arterial stiffens. *Front Endocrinol*. 2013;4:161. PMID:24194732. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2013.00161>.
  33. Petrella E, Pignatti L, Neri I, Facchinetti F. The L-arginine/nitric oxide pathway is impaired in overweight/obese pregnant women. *Pregnancy Hypertens*. 2014;4(2):150-5. PMID:26104420. <http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2014.01.001>.
  34. Zhang X, Lynch AI, Davis BR, et al. Pharmacogenetic association of NOS3 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension: the genhat study. *PLoS One*. 2012;7(3):e34217. PMID:22470539. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0034217>.
  35. Teixeira BCA, Lopes AL, Macedo RCO, et al. Marcadores inflamatórios, função endotelial e riscos cardiovasculares. *J Vasc Bras*. 2014;13:2. <http://dx.doi.org/10.1590/jvb.2014.054>.
  36. Bressler J, Pankow JS, Coresh J, Boerwinkle E. Interaction between the NOS3 Gene and obesity as a determinant of risk of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *PLoS One*. 2013;8(11):e79466. PMID:24278136. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0079466>.
  37. Ghasemi A, Zahediasl S, Azizi F. Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population. *Clin Biochem*. 2010;43(1-2):89-94. PMID:19782059. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.09.011>.
  38. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci*. 2013;9(10):1057-69. PMID:24250251. <http://dx.doi.org/10.7150/ijbs.7502>.
  39. Celik M, Iyisoy A, Celik T, Yilmaz MI, Yuksel UC, Yaman H. The relationship between L-arginine/ADMA ratio and coronary collateral development in patients with low glomerular filtration rate. *Cardiol J*. 2012;19(1):29-35. PMID:22298165. <http://dx.doi.org/10.5603/CJ.2012.0006>.
  40. Sharma V, Ten-Have GA, Ytrebo L, et al. Nitric oxide and L-arginine metabolism in a devascularized porcine model of acute liver failure. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;303(3):G435-41. PMID:22421619. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00268.2011>.
  41. Veresh Z, Debreczeni B, Hamar J, Kaminski PM, Wolin MS, Koller A. Asymmetric dimethylarginine reduces nitric oxide donor-mediated dilation of arterioles by activating the vascular renin-angiotensin system and reactive oxygen species. *J Vasc Res*. 2012;49(4):363-72. PMID:22652896. <http://dx.doi.org/10.1159/000337485>.
  42. Nishiyama Y, Ueda M, Katsura KI, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a possible risk marker for ischemic stroke. *J Neurol Sci*. 2010;290(1-2):12-5. PMID:20060545. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2009.12.020>.
  43. Hirooka Y, Kishi T, Sakai K, Takeshita U, Sunagawa K. Imbalance of central nitric oxide and reactive oxygen species in the regulation of sympathetic activity and neural mechanisms of hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011;300(4):R818-26. PMID:21289238. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00426.2010>.
  44. Rocha MS, Teerlink T, Janssen MCH, et al. Asymmetric dimethylarginine in adults with cystathionine  $\beta$ -synthase deficiency. *Atheroscler*. 2012;222(2):509-11. PMID:22484094. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.009>.
  45. Nemeth Z, Cziraki A, Szabados S, Biri B, Keki S, Koller A. Elevated levels of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in the pericardial fluid of cardiac patients correlate with cardiac hypertrophy. *PLoS One*. 2015;10(8):e0135498. PMID:26313940. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0135498>.
  46. Hu X, Atzler D, Xu X, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 is the critical enzyme for degrading the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(7):1540-6. PMID:21493890. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.222638>.
  47. Liu X, Fassett J, Wei Y, Chen Y. Regulation of DDAH1 as a potential therapeutic target for treating cardiovascular diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:619207. PMID:23878601.
  48. Caplin B, Wang Z, Slaviero A, et al. Alanine-glyoxylate aminotransferase-2 metabolizes endogenous methylarginines, regulates NO, and controls blood pressure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(12):2892-900. PMID:23023372. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.254078>.
  49. Caplin B, Leiper J. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors in the biology of disease: markers, mediators, and regulators? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(6):1343-53. PMID:22460557. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.247726>.
  50. Davids M, van Hell AJ, Visser M, Nijveldt RJ, van Leeuwen PA, Teerlink T. Role of the human erythrocyte in generation and storage of asymmetric dimethylarginine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;302(8):1762-70. PMID:22367507. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.01205.2011>.
  51. Davids M, Teerlink T. Plasma concentrations of arginine and asymmetric dimethylarginine do not reflect their intracellular concentrations in peripheral blood mononuclear cells. *Metabolism*. 2013;62(10):1455-61. PMID:23890667. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.017>.
  52. Sibal L, Agarwal SC, Home PD, Boger RH. The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. *Curr Cardiol Rev*. 2010;6(2):82-90. PMID:21532773. <http://dx.doi.org/10.2174/157340310791162659>.
  53. Malyszko J, Koc-Zorawska E, Matuszkiewicz-Rowinska J, Malyszko J. FGF23 and Klotho in relation to markers of endothelial dysfunction in kidney transplant recipients. *Transplant Proc*. 2014;46(8):2647-50. PMID:25380886. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2014.09.015>.
  54. Tripepi G, Kollerits B, Leonardi D, et al. Competitive interaction between fibroblast growth factor 23 and asymmetric dimethylarginine in patients with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(4):935-44. PMID:25150156. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2013121355>.
  55. Reriani MK, Lerman LO, Lerman A. Endothelial function as a functional expression of cardiovascular risk factors. *Biomark Med*. 2010;4(3):351-60. PMID:20550469. <http://dx.doi.org/10.2217/bmm.10.61>.
  56. Hirata Y, Nagata D, Suzuki E, Nishimatsu H, Suzuki J, Nagai R. Diagnosis and treatment of endothelial dysfunction in cardiovascular disease. *Int Heart J*. 2010;51(1):1-6. PMID:20145343. <http://dx.doi.org/10.1536/ihj.51.1>.
  57. Sen S, McDonald SP, Coates PT, Bonder CS. Endothelial progenitor cells: novel biomarker and promising cell therapy for cardiovascular

- disease. *Clin Sci (Lond)*. 2011;120(7):263-83. PMID:21143202. <http://dx.doi.org/10.1042/CS20100429>.
58. Lee PS, Poh KK. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *World J Stem Cells*. 2014;26(3):355-66. PMID:25126384.
  59. McEvoy JW, Chen Y, Nambi V, et al. High-sensitivity cardiac troponin T and risk of hypertension. *Circulation*. 2015;132(9):825-33. PMID:26152706. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014364>.
  60. Bugnicourt JM, Rogez V, Guillaumont MP, Rogez JC, Canaple S, Godefroy O. Troponin levels help predict new-onset atrial fibrillation in ischaemic stroke patients: a retrospective study. *Eur Neurol*. 2010;63(1):24-8. PMID:19923841. <http://dx.doi.org/10.1159/000258679>.
  61. Tu HT, Campbell BC, Churilov L, et al. Frequent early cardiac complications contribute to worse stroke outcome in atrial fibrillation. *Cerebrovasc Dis*. 2011;32(5):454-60. PMID:22005390. <http://dx.doi.org/10.1159/000332028>.
  62. Lackland DT, Elkind MS, D'Agostino R Sr, et al. Inclusion of stroke in cardiovascular risk prediction instruments: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2012;43(7):1998-2027. PMID:22627990. <http://dx.doi.org/10.1161/STR.0b013e31825bcdac>.
  63. Brondum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG. 25-hydroxyvitamin D levels and risk of ischemic heart disease, myocardial infarction, and early death: population-based study and meta-analyses of 18 and 17 studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(11):2794-802. PMID:22936341. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.248039>.
  64. Grandi NC, Breitling LP, Brenner H. Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med*. 2010;51(3-4):228-33. PMID:20600257. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ypmed.2010.06.013>.
  65. Sokol SI, Tsang P, Aggarwal V, Melamed ML, Srinivas VS. Vitamin D status and risk of cardiovascular events: lessons learned via systematic review and meta-analysis. *Cardiol Rev*. 2011;19(4):192-201. PMID:21646873. <http://dx.doi.org/10.1097/CRD.0b013e31821da9a5>.
  66. Wang L, Song Y, Manson JE, et al. Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2012;5(6):819-29. PMID:23149428. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.112.967604>.
  67. Lou YR, Molnár F, Peräkylä M, et al. 25-Hydroxyvitamin D(3) is an agonistic vitamin D receptor ligand. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;118(3):162-70. PMID:19944755. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsmb.2009.11.011>.
  68. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics-2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125(1):e2-220. PMID:22179539. <http://dx.doi.org/10.1161/CIR.0b013e31823ac046>.
  69. Yanik M, Feig DI. Serum urate: a biomarker or treatment target in pediatric hypertension? *Curr Opin Cardiol*. 2013;28(4):433-8. PMID:23736817.
  70. Grassi D, Ferri L, Desideri G, et al. Chronic hyperuricemia, uric acid deposit and cardiovascular Risk. *Curr Pharm Des*. 2013;19(13):2432-8. PMID:23173592. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612811319130011>.
  71. Kaufman M, Guglin M. Uric acid in heart failure: a biomarker or therapeutic target? *Heart Fail Rev*. 2013;18(2):177-86. PMID:22584465. <http://dx.doi.org/10.1007/s10741-012-9322-2>.
  72. Mamas M, Dunn WB, Neyes L, Goodacre R. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol*. 2011;85(1):5-17. PMID:20953584. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-010-0609-6>.
  73. Zhao Y-Y, Cheng X-L, Vaziri ND, Liu S, Lin R-C. UPLC-based metabolomic applications for discovering biomarkers of diseases in clinical chemistry. *Clin Biochem*. 2014;47(15):16-26. PMID:25087975. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.07.019>.
  74. Kessler T, Erdmann J, Dichgans M, Schunkert H. Shared genetic aetiology of coronary artery disease and atherosclerotic stroke-2015. *Curr Atheroscler Rep*. 2015;17(4):498. PMID:25690589. <http://dx.doi.org/10.1007/s11883-015-0498-5>.
  75. O'Donnell CJ, Nabel EG. Genomics of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2011;365(22):2098-109. PMID:22129254. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1105239>.
  76. Zhao YY, Cheng XL, Vaziri ND, Liu S, Lin RC. UPLC-based metabolomic applications for discovering biomarkers of diseases in clinical chemistry. *Clin Biochem*. 2015;47(15):16-26. PMID:25087975. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.07.019>.
  77. Giannakoulas G, Dimopoulos K, Bolger AP, et al. Usefulness of natriuretic Peptide levels to predict mortality in adults with congenital heart disease. *Am J Cardiol*. 2010;105(6):869-73. PMID:20211335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.11.041>.
  78. Goff DC Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation*. 2014;129(25, Suppl2):S49-73. PMID:24222018. <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000437741.48606.98>.
  79. Mokra D, Kosutova P. Biomarkers in acute lung injury. *Respir Physiol Neurobiol*. 2014;209:52-8. PMID:25466727.

---

#### Correspondência

Josynaria Araújo Neves  
 Universidade Federal do Piauí – UFPI  
 Campus Universitário Ministro Petrônio Portela  
 Avenida Universitária, s/n – Ininga  
 CEP 64049-550 - Teresina (PI), Brasil  
 E-mail: josynaria@hotmail.com

#### Informações sobre os autores

JAN - Bióloga; Estudante de doutorado pela Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) no ponto focal da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Centro de Ciências da Saúde, Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais.

JAN - Bióloga; Tecnóloga em alimentos e estudante de doutorado pela Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) no ponto focal da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Centro de Ciências da Saúde, Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais; Docente do Instituto Federal do Maranhão (IFMA).

RCMO - Docente da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Centro de Ciências da Saúde, Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais.

#### Contribuições dos autores

Concepção e desenho do estudo: JAN, JAN  
 Análise e interpretação dos dados: JAN, JAN  
 Coleta de dados: JAN, JAN  
 Redação do artigo: JAN, JAN  
 Revisão crítica do texto: JAN, JAN, RCMO  
 Aprovação final do artigo\*: JAN, JAN, RCMO  
 Análise estatística: N/A.

Responsabilidade geral pelo estudo: JAN, JAN, RCMO

\*Todos os autores leram e aprovaram a versão final submetida ao J Vasc Bras.

# Biomarkers of endothelial function in cardiovascular diseases: hypertension

## *Biomarcadores de função endotelial em doenças cardiovasculares: hipertensão*

Josynaria Araújo Neves<sup>1</sup>, Josyanne Araújo Neves<sup>1</sup>, Rita de Cássia Meneses Oliveira<sup>1</sup>

### Abstract

The incidence of systemic arterial hypertension is increasing worldwide. The foundation of prevention is identification of people with hypertension. Nowadays, biomarkers are used to diagnose and stratify diseases and estimates prognosis. The objective of this study was to review articles published over the last 5 years on the subject of biomarkers of cardiovascular diseases. The PubMed, SciELO, Science Direct and MEDLINE databases were searched using the keywords: arterial hypertension, cardiovascular biomarkers, nitric oxide, endothelial function and asymmetric dimethylarginine. The studies reviewed show that cardiovascular diseases have complex etiologies. This article describes evidence demonstrating interactions between nitric oxide and asymmetric dimethylarginine that are involved in regulation, in metabolism, and in determination of intracellular levels, and also discusses other biomarkers related to hypertension. Some studies indicate that biomarkers are useful tools for prediction of cardiac events, whereas others state that they have little to contribute to assessments. Careful selection of tests and combinations of tests may be the key to validating use of biomarkers, in view of their low specificity for diagnosing hypertension.

**Keywords:** biomarkers; hypertension; endothelial function; ADMA.

### Resumo

A incidência de hipertensão arterial sistêmica está aumentando mundialmente. Sua prevenção baseia-se na identificação dos hipertensos. Atualmente, biomarcadores são utilizados com fins de diagnosticar, estratificar e prognosticar doenças. Neste estudo, objetivou-se revisar artigos dos últimos cinco anos relacionados a biomarcadores nas doenças cardiovasculares. Pesquisaram-se dados de PubMed, SciELO, Science Direct e MEDLINE, mediante as palavras-chave: hipertensão arterial, biomarcadores cardiovasculares, óxido nítrico, função endotelial e dimetilarginina assimétrica. Os estudos levantados mostram que as doenças cardiovasculares possuem uma etiologia complexa. Neste artigo, evidenciaram-se interações entre o óxido nítrico e a dimetilarginina assimétrica na regulação, no metabolismo e na determinação dos níveis intracelulares, e reviram-se outros biomarcadores relacionados à hipertensão. Alguns estudos indicam os biomarcadores como uma ferramenta útil na predição de eventos cardíacos, e outros reportam que eles contribuem pouco para a avaliação. A seleção e combinação desses pode ser uma alternativa para validar o uso dos biomarcadores devido à pouca especificidade existente para diagnosticar a hipertensão.

**Palavras-chave:** biomarcadores; hipertensão; função endotelial; ADMA.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Piauí – UFPI, Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais – NPPM, Teresina, PI, Brazil.

Financial support: None.

Conflicts of interest: No conflicts of interest declared concerning the publication of this article.

Submitted: March 02, 2016. Accepted: July 28, 2016.

The study was carried out at Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brazil.

## ■ INTRODUCTION

In view of its dimensions, the risks involved, and the difficulty of controlling it, systemic arterial hypertension (SAH) can be considered a severe public health problem and one that is associated with a high mortality rate, since it predisposes patients to the development of cardiovascular diseases (CVDs).<sup>1</sup> Cardiovascular diseases affect more than 83.6 million North Americans and, in Brazil, the Ministry of health registered 326,000 deaths caused by these diseases during 2010, corresponding to around 1000 deaths per day.<sup>2</sup>

According to Georgiopolou et al.,<sup>3</sup> the incidence of SAH has increased worldwide. Durande and Gutterman<sup>4</sup> state that endothelial cells perform a wide range of homeostatic functions. It has been suggested that the combination of vascular endothelial dysfunction and SAH is related to local and systemic inflammation.<sup>5</sup> It is known that inflammation is a physiological response to protect against harmful and/or pathogenic stimuli and that endothelial dysfunction is a proinflammatory state involving changes to endothelial functions and that it is associated with SAH, which in turn is a multifaceted disease.

Free radicals are among the pathological factors involved, provoking tissue damage and endothelial dysfunction by disturbing the nitric oxide (NO) equilibrium, causing elevated oxidative stress, high proinflammatory cytokine levels (tumor necrosis factor alpha - TNF- $\alpha$ ; interleukins IL-6 and IL-1 $\beta$ ) and excessive production of inflammatory chemokines [macrophage inflammatory protein alpha-1 (MIP-1 $\alpha$ ) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)].<sup>6,7</sup>

Systemic arterial hypertension is a pathology that constitutes a risk factor that is associated with high rates of morbidity and mortality because it contributes to exacerbation of other CVDs and kidney diseases.<sup>8</sup> As such, SAH is clearly associated with development of vascular lesions and the emergence of dysfunctions in target organs such as the brain, heart, blood vessels, and kidneys.<sup>9</sup>

Biomarkers are widely employed in clinical cardiovascular medicine both for diagnosis and stratification of risk and also for estimating the prognosis of these pathologies.<sup>10</sup> One example of an application of biomarkers is testing osteoprotegerin levels in cases of heart failure, which may be related to SAH as a cause of hypertrophy of the myocardium.<sup>11</sup>

The objective of this study is to conduct a review of articles in the scientific literature related to the subject of SAH and biomarkers. Over the last 10 years, asymmetric dimethylarginine (ADMA) has emerged

as a promising cardiovascular biomarker. Therefore, searches were run for reports relating to plasma ADMA as a new biomarker of putative cardiovascular risk, such as in hypertension, and also for reports describing the contributions made by incorporation of other models of biomarkers, such as endothelial stem cells, troponin T, vitamin D, and uric acid.

A review of the current literature was conducted using bibliographic references published between 2010 and 2015, identified by searching the PubMed, SciELO, Science Direct, and MEDLINE databases, using the following keywords and combinations of them: arterial hypertension, cardiovascular biomarkers, nitric oxide, endothelial function, and asymmetric dimethylarginine. Searches were run for these terms in both Portuguese and in English.

## ■ ARTERIAL BLOOD PRESSURE AND HYPERTENSION

Arterial blood pressure (BP) can be defined as the force exerted by the blood against a given unit of area of the vascular wall. This pressure is generated by the heart and it is the force (potential energy) that enables blood flow and tissue perfusion. Blood flow through the circulation provides organs and tissues with oxygen according to need and removes the metabolites produced by cell activity. Maintenance of an appropriate blood pressure is therefore of fundamental importance for the circulatory system to function well.

Understanding the pathophysiology of SAH requires an understanding of the mechanisms that control BP, which is regulated by activities that are integrated between the cardiovascular, renal, neural, and endocrine systems, and by physical factors such as the force of the heart's contractions and the elasticity of the major thoracic arteries. According to Franceschini et al.,<sup>8</sup> maintenance of BP within the normal range is dependent on variations in cardiac output and peripheral resistance, with countless substances and physiological systems interacting in a complex manner to guarantee adequate BP levels in a diverse range of scenarios.

Systemic arterial hypertension is a circulatory disorder.<sup>12</sup> This multifactorial clinical condition is associated with metabolic and functional/structural abnormalities of target organs (heart, kidneys, and blood vessels), characterized by sustained elevated BP levels, generally above the target levels (systolic pressure  $\geq$  140 mmHg and/or diastolic pressure  $\geq$  90 mmHg).<sup>13,14</sup> Systemic arterial hypertension, or elevated BP, is recognized as an important risk factor for cardiovascular morbidity

and mortality,<sup>15,16</sup> even when patients are taking antihypertensive medications.

The literature lists certain environmental factors that have been linked with progression and complications of cardiovascular pathologies, including smoking, obesity, inactivity, and others. The combinations of these factors in people with hypertension appear to vary with age, physical inactivity, hyperglycemia, and dyslipidemia, while obesity increases the prevalence of associations with multiple risk factors.<sup>14</sup> Lima et al.<sup>17</sup> conducted a study of Brazilian myocardial revascularization patients and concluded that arterial hypertension, obesity, and inactivity were the most common factors and that 79.5% of the patients exhibited at least three risk factors. It has also been observed that the factors that provoke changes to BP are emerging in ever-younger age groups.<sup>18</sup>

Nobre et al.<sup>19</sup> point out that the genesis of hypertension encompasses genetic, environmental, vascular, and neural elements. Hyperactivity of the sympathetic nervous system has been proposed as an important mechanism of hypertension and CVD.<sup>20</sup>

Social determinants, such as urbanization, income, aging, and education, influence development of the pathology.<sup>12</sup> As a result, national and international guidelines for prevention of SAH recommend lifestyle changes, and this approach has gained support over recent years as survival of patients with chronic diseases has increased.<sup>15</sup>

The vascular endothelium plays a role in the pathophysiologic mechanisms leading to SAH.

## ■ ENDOTHELIUM AND PATHOPHYSIOLOGIC CHANGES

In physiological conditions, endothelial cells are controlled by hemodynamic factors such as BP and blood flow, leading to responses that are dependent on production of chemical mediators and that result in changes to blood flow.<sup>21</sup> These cells play a fundamental role in regulation of vascular tone by synthesis and release of relaxation and contraction factors involved in cardiovascular homeostasis.<sup>22</sup>

According to Days et al.,<sup>23</sup> the most important endothelium-derived relaxation factors are NO, endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF), and prostacyclin (PGI<sub>2</sub>). The principal contractile factors are prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), thromboxane A<sub>2</sub>, angiotensin II (Ang II), reactive oxygen species (ROS), and endothelin (ET-1).

Endothelium is an organ with multiple functions. Endothelium's ability to modulate the vascular lumen by regulating vascular tone (controlling local dilation

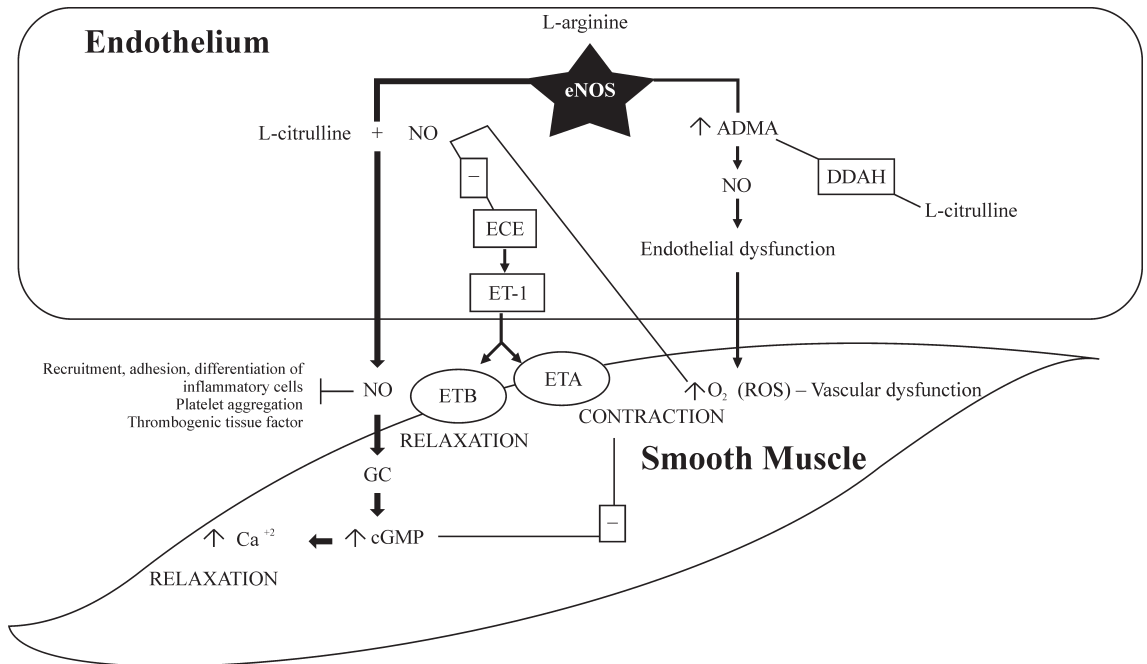
and contraction) or by releasing vasoactive factors is one of the primary responses to physiological stimuli generated by blood flow and blood pressure.<sup>24-27</sup>

In hypertension, the complex mechanism that raises BP via NO deficiency involves increase of sympathetic system tone, of the renin-angiotensin system (RAS), and of oxidative stress.<sup>28,29</sup> All cells, including endothelial cells, have complex enzymatic and non-enzymatic antioxidants systems that act in synergy to defend the organism from damage caused by free radicals.<sup>30</sup>

Nitric oxide is an inorganic, gaseous, highly reactive free radical that is produced by oxidation of the amino acid L-arginine, which is converted into L-citrulline.<sup>23</sup> Nitric oxide is generated from L-arginine by endothelial NO-synthase in the presence of cofactors. Once produced, it diffuses to vascular smooth muscle cells and activates guanylate cyclase (GC), which results in vasodilation mediated by release of the second messenger cyclic guanosine monophosphate (cGMP) and activation of G-dependent protein kinase, resulting in a reduction in intracellular calcium concentration, followed by vasorelaxation. In addition to this activity, NO has many other functions that take part in regulation of transcription of genes, translation of mRNA, and protein modification of several enzymes involved in mitochondrial respiration, in mitogenesis, and in growth.<sup>31</sup> The NO and cGMP signaling system is a well-characterized modulator of cardiovascular function in general and of BP in particular<sup>32</sup> (Figure 1).

There are three isoforms of the enzyme responsible for nitric oxide synthesis (NOS). The neuronal form (nNOS), found in neurons and activated by calcium, the inducible form (iNOS), stimulated by inflammatory cytokines, microbial products, and mechanical disturbance,<sup>33</sup> and the enzyme endothelial nitric oxide synthase (eNOS), located on chromosome 7 (7q35-36) are responsible for synthesis of NO in the circulation, with vasoprotective and vasodilatory capacities.<sup>34</sup> In addition to inhibiting proliferation of smooth muscle cells, they prevent recruitment, adhesion, and differentiation of inflammatory cells, platelet aggregation, and production of thrombogenic thromboplastin.<sup>21,35</sup>

The activity of eNOS and nNOS is dependent on the calcium/calmodulin complex (Ca<sup>2+</sup>/CaM). As such, it is controlled by variations in the concentration of intracellular calcium, which is an important cytoplasmic signaler. In contrast, iNOS is independent of increases in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentrations, according to Forsterman and Sessa,<sup>31</sup> and it is expressed in abnormal cellular processes induced and/or stimulated



**Figure 1.** Endothelial signaling and mechanism of relaxation or contraction of smooth muscle. eNOS: endothelial nitric oxide synthase enzyme; NO: nitric oxide; GC: guanylate cyclase; cGMP: cyclic guanosine monophosphate; Ca<sup>2+</sup>: calcium ions; ECE: endothelin conversion enzyme; ET-1: endothelin 1; ETA, ETB: receptors for endothelins – ETA and ETB in vascular smooth muscle cells; O<sub>2</sub>: free radicals; ROS: reactive oxygen species; ADMA: asymmetric dimethylarginine; DDAH: dimethylarginine dimethylaminohydrolase.

by cytokines, inflammatory agents, and mechanical disturbance, resulting in elevated NO flow.<sup>23,34</sup>

## BIOMARKERS OF NO/ADMA

Defects of endothelial function and of NO production have been linked with atherosclerosis, hypertension, diabetes, obesity, inactivity, smoking, advanced age, low bioavailability of L-arginine, and presence of infectious agents.<sup>36</sup>

Studies with metabolites of NO, such as nitrite/nitrate (NO<sub>x</sub>), show that they act as monitors of the state of health of patients with CVDs and can be used as biomarkers in clinical settings.<sup>37</sup> Rajendran et al.<sup>38</sup> provided further support for this approach, assessing endothelial function in terms of circulating endothelial biomarkers measured in plasma because there are many attractive candidates for endothelial biomarkers. However, they also pointed out that for many pathologies these molecules offer weak selectivity and specificity and so if they are used individually they have little predictive value.

Considering that production of NO has been associated with low bioavailability of L-arginine,<sup>36</sup> and that this substrate is an analog of ADMA, studies have suggested that the L-arginine/ADMA ratio has a direct impact on bioavailability of NO.<sup>39</sup> According

to Sharma et al.,<sup>40</sup> the L-arginine/ADMA ratio in plasma from healthy people is approximately 100:1. However, in a pathophysiologic situation, ADMA exhibits higher concentrations when compared to L-arginine and so ADMA may act to competitively inhibit eNOS, since it prevents formation of NO and, consequently, reduces synthesis of this substrate.<sup>41</sup> Elevated ADMA levels may therefore inhibit NO synthesis, compromising endothelial function.

High plasma ADMA levels have been reported in patients with vascular risk factors and have a high predictive value for cardiovascular and cerebrovascular events, while Nishiyama et al.<sup>42</sup> identified ADMA as a biomarker of arterial hypertension. The results of this bibliographic review lead to the conclusion that there have not been enough studies of the effects of intracellular ADMA levels on hypertension in the last 5 years.

Studies have also revealed that elevated/high ADMA levels reduce the participation of NO in regulation of vascular tone by acting to directly inhibit eNOS and to reduce its bioavailability by increasing the production and release of ROS by activation of the RAS, leading to vascular dysfunction in isolated arterial vessels *in vitro*.<sup>41</sup>

There is evidence to suggest that the imbalance in NO and ROS levels (reduced and increased,

respectively) activates the sympathetic nervous system, which is a mechanism that appears to be involved in the neurogenic aspects of hypertension.<sup>43</sup> Therefore, ADMA could be used as a biomarker, indicating a reduction in the bioavailability of NO.<sup>41</sup>

■ BIOSYNTHESIS OF ADMA

The substrate ADMA is formed after proteolysis of proteins containing methylated residues of arginine. This methylation is facilitated by the enzyme methyltransferase (PRMTs), which uses the S-adenosylmethionine (SAM) protein as the methyl donor group.<sup>44</sup> It is known that there are two types of PRMTs, differentiated according to their specific catalytic activity: type 1 catalyzes formation of ADMA and NG-monomethyl-L-arginine (L-NMMA); while type 2 catalyzes formation of symmetrical dimethylarginine (SDMA) and L-NMMA (Figure 2).

Currently, there is interest in degradation of ADMA by dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH),<sup>45</sup> which is constituted by two isoforms (DDAH-1 and DDAH-2). Degradation of ADMA by the enzymatic isoform DDAH-1 takes place in tissues<sup>46</sup> and it has been suggested that modulation of DDAH-1 activity by agonists of the farnesoid X receptor (FXR), for example -(2,6-dichlorophenyl)-4-(3'-carboxy-2-chlorostilben-4-yl) oxymethyl-5-isopropylisoxazole (GW4064), could be used as a

therapeutic target in treatments for congestive heart failure and other CVDs.<sup>47</sup>

According to Caplin et al.,<sup>48</sup> 80 to 90% of ADMA is primarily metabolized by DDAHs. There is an alternative route via alanine-aminotransferase 2 glyoxylate (AGXT2) in the kidneys.<sup>49</sup> Since ADMA accumulates in plasma, it could be considered a pathophysiologic cofactor in cardiovascular and kidney diseases.

According to Davids et al.,<sup>50</sup> it should be borne in mind that in some cases the levels of ADMA in circulation do reflect intracellular concentrations. However these levels are not in equilibrium.<sup>51</sup>

According to Nemeth et al.,<sup>45</sup> elevated ADMA levels in the pericardial liquid of cardiac patients may be indicative of important pathophysiologic mechanisms, such as reduction in bioavailability of NO, contributing to the development of cardiac hypertrophy and remodeling. These authors therefore propose that analysis of this liquid could be used as a diagnostic tool because of interference in the content and effects of pericardial liquid, opening up new treatment options to beneficially modify cardiac function and structure.

It is known that ADMA has been identified as a risk factor of endothelial dysfunction acting in several different cardiovascular diseases, accelerating their progression.<sup>52</sup> Recent studies in patients with chronic kidney disease (CKD) suggest that there is a relationship or association between ADMA levels and fibroblast growth factor 23 (FGF-23), and also a relationship with markers of endothelial cell damage.<sup>53,54</sup>

Several different studies have assessed conventional and innovative biomarkers for prediction of cardiovascular events. Reriani et al.<sup>55</sup> point out that there is a need to evaluate the utility of putative biomarkers for evaluation of cardiovascular risk, when compared with endothelial function, because of the small additional value offered by these biomarkers when compared with conventional risk factors. There is speculation that the biomarkers in these studies may only have a minimal role to play in stratification of cardiovascular risk.

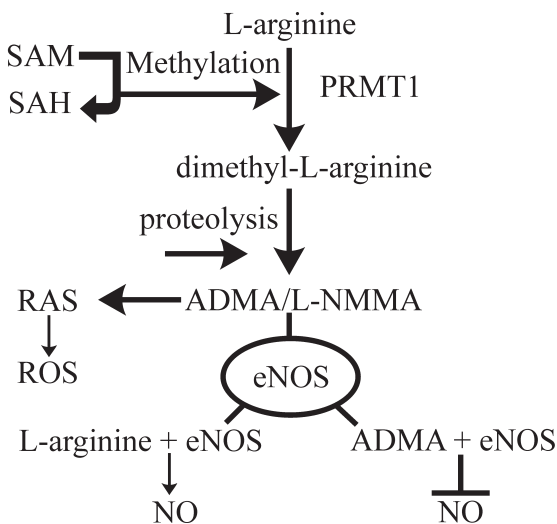


Figure 2. ADMA pathway and its relationship with NO. ADMA: asymmetric dimethylarginine; SAM: S-adenosylmethionine; SAH: S-adenosylhomocysteine hydrolase; PRMT1: enzyme methyltransferase type 1; SDMA: symmetrical dimethylarginine; L-NMMA: NG-monomethyl-L-arginine; RAS: renin-angiotensin system; ROS: reactive oxygen species; eNOS: endothelial nitric oxide synthase enzyme; NO: nitric oxide synthesis.

■ OTHER BIOMARKERS

Table 1 shows a list of some well-known biomarkers. According to Hirata et al.,<sup>56</sup> many different markers have been cited in the literature on vascular endothelial dysfunction, including insulin, adiponectin, vasodilators (nitrite and nitrate), and vasoconstrictors (ROS, endothelin, thromboxane A2). Some of the studies reviewed for this article were focused on endothelial

**Table 1.** Some of the markers assayed exhibited relationships with cardiac risk.

Category	Biomarker	Effects
Vascular inflammation	CRP* (protein)	-Provokes endothelial dysfunction by direct suppression of NO production <sup>†</sup> -Activation of the RAS <sup>‡</sup> -Increased CRP levels have been associated with increased risk of hypertension
	IL-6 <sup>§</sup> , IL-1 <sup>  </sup> , TNF- $\alpha$ <sup>¶</sup> , MCP-1 <sup>**</sup> (cytokine)	-IL-6 has a positive correlation with systolic and diastolic pressures -Concentrations of IL-6 and CRP coincide with increased BMI <sup>††</sup> , elevated lipids and other risk factors related to atherosclerosis
Myocardial stress	BNP <sup>‡‡</sup> and NT-proBNP <sup>§§</sup> (neuro-hormone)	-Ventricular dilatation and pressure overload on the myocardial wall -Increased glomerular filtration rate -Increased excretion of water and sodium
Oxidative stress and renal function	Homocysteine	-Increased plasma homocysteine as a marker of cardiovascular risk associated with age, cholesterol and hypertension
Fibrinolytic potential	PAI-1 <sup>    </sup>	-Inhibitor of serine protease produced by endothelial cells -Increased levels of PAI-1 in hypertensive people caused by induction of shear stress and/or endothelial activation

\* CRP: C-reactive protein. † NO: nitric oxide. ‡ RAS: renin-angiotensin system. § IL-6: interleukin-6. || IL-1: interleukin-1. ¶ TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor- $\alpha$ . \*\* MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1. †† BMI: body mass index. ‡‡ BNP: natriuretic peptide type B. §§ NT-proBNP: pro-BNP. |||| PAI-1: plasminogen activator inhibitor 1.

function and investigation of other possible biomarkers. These are described in the following subsections.

### Endothelial Stem Cells (ESCs)

Endothelial stem cells are mononuclear cells that express a combination of endothelial markers (VEGFR2) and progenitors (CD34/CD133) and have a high proliferative capacity. They can be isolated from peripheral blood, bone marrow, and umbilical cord blood. There is no single specific marker that can be used to identify the cells and currently the most widely accepted method is coexpression of the markers CD133, CD34 and VEGFR2. While these markers are not exclusive to ESCs, their presence in combination is characteristic of a specific type of progenitor cell at a specific stage of maturity.<sup>57,58</sup>

It has been found that ESCs help in endothelial repair processes and the formation of new vessels, which makes them candidates to be used as markers of cardiovascular health.

### Troponin T (hs-cTnT)

McEvoy et al.<sup>59</sup> conducted an assessment of the sensitivity of troponin T (hs-cTnT), which is a marker of subclinical myocardial injury that could possibly identify individuals at risk of hypertension or left ventricular hypertrophy. They concluded that hs-cTnT was associated with the incidence of hypertension and with risk of left ventricular hypertrophy in a clinical population with no history of CVD. However, they emphasized the need for further research to determine

whether hs-cTnT could identify, and benefit clinical screening of, BP or hypertension.

Authors such as Bugnicourt et al.<sup>60</sup> and Tu et al.<sup>61</sup> have demonstrated that Troponin concentrations could predict a new onset of atrial fibrillation, since they are independently associated with worse clinical outcomes due to severe adverse cardiac events. The exact mechanism by which atrial fibrillation leads to elevated hs-TN is not fully understood and further studies are needed. However, biomarkers such as hs-TNI or hs-TNT are easy to handle and impose lower financial costs.

Use of hs-TN could identify patients at very high risk and, consequently, allow them to be allocated special treatment with a greater degree of control and definition of stricter limits of possible risk factors, such as BP, high cholesterol, and diabetes mellitus.<sup>62</sup> It is known that hs-TNI levels are very sensitive for identification of damage to tissues in the heart.

### Vitamin D

The effects of vitamin D on calcium homeostasis and bone metabolism have received a great deal of emphasis in the literature. However, more recent studies have reported that it is associated with several different health problems, including effects on cardiovascular health, since vitamin D can interact with many different mechanisms.

According to the authors Brondum-Jacobsen et al.,<sup>63</sup> Grandi et al.,<sup>64</sup> Sokol et al.,<sup>65</sup> and Wang et al.,<sup>66</sup> vitamin D levels can be used as biomarkers in patients with CVDs.



The principal vitamin D in circulation is in the form of 25-hydroxyvitamin D. This circulating form binds directly to the vitamin D receptor (VDR) to exert its effect, or it can be converted in the kidneys by 1  $\alpha$ -hydroxylase to 1,25-dihydroxyvitamin D, also known as the hormone calcitriol.<sup>67,68</sup> It should be remembered that calcitriol acts by binding with VDR, which is found in the vascular endothelium, vascular smooth muscle, and the myocardium, which raises the possibility of a direct biological effect of vitamin D in the cardiovascular system. The majority of studies report that low levels of 25-hydroxyvitamin D are associated with cardiovascular risk factors such as hypertension, diabetes, and inflammation.

### Uric Acid (UA)

Uric acid is currently one of the areas of greatest interest in research related to SAH. Yanik and Feig<sup>69</sup> have demonstrated an association between hyperuricemia and arterial hypertension, providing a basis for using serum levels as a biomarker for diagnosis.

Uric acid is formed by breakdown of adenosine and guanine via hypoxanthine, which is converted into xanthine and UA by xanthine oxidase.<sup>70</sup> The by-products of reactions catalyzed by xanthine oxidase include ROS such as the superoxide anion, which reacts with protons and NO to generate new ROS. These, in turn, provoke damage to the cardiovascular endothelium and microvasculature.<sup>71</sup>

Mamas et al.<sup>72</sup> point out that the majority of biomarkers are not metabolites, like the troponins, which are proteins. Analysis of the metabolites in bodily fluids has become an important part of diagnosis and of estimation of prognosis and assessment of therapeutic interventions in clinical applications, since the metabolome is the final product, downstream of transcription and translation, which means that is more closely related to phenotype.

Currently, the search for biomarkers in the form of specific metabolites in tissues and/or bodily fluids is very intense. One such, ADMA, is naturally a product of human metabolism that is found in circulation and is therefore one of the metabolites found in bodily fluids. Biomarkers that can be detected in blood serum or plasma have gained importance because of their efficacy for diagnosis of pathologies. However, despite all of the advances that have been made, Zhao et al.<sup>73</sup> point out that there are still technological limitations, including the lack of a single method for extensive analysis of the entire metabolome, limited spectral libraries and databases, and certain disadvantages of the software available for processing data and extracting biomarkers. The same authors also point

to the need to find a reasonable method for analysis of metabolites that could substitute or complement the traditional method of diagnosis.

According to Kessler et al.,<sup>74</sup> recent advances in molecular biology have highlighted the possibilities for prevention and treatment, since the high yields and the statistics of genotyping will, in the future, enable identification of, and intervention in, specific genomic loci with the potential to change the risk of CVD and, consequently, increase prevention and treatment options for individual people. This is in line with findings published by O'Donnell and Nabel,<sup>75</sup> who conducted genome-wide association studies (GWAS), discovering genetic loci associated with CVDs, including biomarkers in the blood.

According to Zhao et al.,<sup>76</sup> the majority of clinical tests use methods that include tests with a single biomarker, histopathology, and immunohistochemistry. The same authors also state that recent assay methods are generally of low specificity and sensitivity for a given disease in particular and that the traditional biomarkers only change significantly once the disease has caused substantial damage or dysfunction.

Clinical use of biomarkers is compromised in adults with congenital cardiac disease and diagnosis and follow-up of treatment are commonly based on tests of cardiopulmonary exercise.<sup>77</sup> Additionally, the risk categories employed are very rudimentary and were identified more than 50 years ago.<sup>78</sup>

In general, the ideal biomarker should offer certain characteristics (reliability, sensitivity, and specificity for the disease), should exhibit minimal variation and should have a low baseline level in healthy people and a high level in the presence of diseases. Additionally, a useful biomarker should be quantifiable using simple and relatively inexpensive methods with results that are reproducible in many different laboratories.<sup>79</sup>

## ■ FINAL COMMENTS

It should be stressed that CVDs have complex etiology, involving many different factors, interactions, and interrelations, that in combination provoke the physiological mechanisms. Efforts to develop diagnostic methods are concentrating on identification of biomarkers, since there is a growing need for noninvasive methods to evaluate, monitor, and adjust endothelial function and hypertension.

In this review evidence was compiled showing a large number of interactions between regulation, metabolism, and determination of intracellular levels of ADMA and of the NOS enzyme that play pathogenic roles in CVDs. Evidence was also identified showing

that other potential markers, such as ESCs, troponin T, vitamin D, and UA, also play roles in these processes. It should be stressed that while some of the studies reviewed indicate that biomarkers have potential for prediction of cardiac events, others state that they contribute relatively little to assessments, especially in low-risk populations. Another issue identified is related to the specificity of biomarkers: it is essential to select and combine them because of the correlations between mechanisms of action, and this has attracted the interest of that section of the scientific community that is focused on reduction of cardiovascular risk, since it could be a viable option for validating these tests, in view of their low specificity for diagnosis of hypertension.

## REFERENCES

- Gama H, Damasceno A, Silva-Matos C, Diogo D, Azevedo A, Lunet N. Low prevalence of hypertension with pharmacological treatments and associated factors. *Rev Saude Publica*. 2013;47(2):301-8. PMID:24037357. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-910.2013047004328>.
- Simão AF, Prêcoma DB, Andrade JP, et al. I Diretriz Brasileira de prevenção cardiovascular. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(6, Supl. 2):1-63. PMID:24554026. <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20135012>.
- Georgiopolou VV, Kalogeropoulos AP, Butler J. Heart failure in hypertension: prevention and treatment. *Drugs*. 2012;72(10):1373-98. PMID:22747449. <http://dx.doi.org/10.2165/11631100-000000000-00000>.
- Durand ML, Gutterman DD. Diversity in mechanisms of endothelium-dependent vasodilation in health and disease. *Microcirculação*. 2013;20(3):239-47. PMID:23311975. <http://dx.doi.org/10.1111/micc.12040>.
- Dharmashankar K, Widlansky ME. Vascular endothelial function and hypertension: insights and directions. *Curr Hypertens Rep*. 2010;12(6):448-55. PMID:20857237. <http://dx.doi.org/10.1007/s11906-010-0150-2>.
- Collier P, Watson CJ, Voon V, et al. Can emerging biomarkers of myocardial remodelling identify asymptomatic hypertensive patients at risk for diastolic dysfunction and diastolic heart failure? *Eur J Heart Fail*. 2011;13(10):1087-95. PMID:21719449. <http://dx.doi.org/10.1093/eurjhf/hfr079>.
- Krebs C, Fraune C, Schmidt-Haupt R, et al. CCR5 deficiency does not reduce hypertensive end-organ damage in mice. *Am J Hypertens*. 2012;25(4):479-86. PMID:22258337. <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2011.243>.
- Franceschini N, Reiner AP, Heiss G. Recent findings in the genetics of blood pressure and hypertension traits. *Am J Hypertens*. 2011;24(4):392-400. PMID:20948529. <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2010.218>.
- Nascimento LR, Molina MCB, Faria CP, et al. Reproducibility of arterial pressure measured in the ELSA-Brasil with 24-hour pressure monitoring. *Rev Saude Publica*. 2013;47(Suppl 2):113-21. PMID:24346728. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047003825>.
- Mamas M, Dunn WB, Neyes L, Goodacre R. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol*. 2011;85(1):5-17. PMID:20953584. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-010-0609-6>.
- Lopez B, Gonzalez A, Lindner D, et al. Osteopontin-mediated myocardial fibrosis in heart failure: a role for lysyl oxidase? *Cardiovasc Res*. 2013;99(1):111-20. PMID:23619422. <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvt100>.
- World Health Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: WHO; 2011.
- Sociedade Brasileira de Hipertensão. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010 [citado em 2016 mar 02];95(1):1-41. [http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2010/Diretriz\\_hipertensao\\_associados.pdf](http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2010/Diretriz_hipertensao_associados.pdf)
- Sociedade Brasileira de Cardiologia; Sociedade Brasileira de Hipertensão; Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de hipertensão. *Arq Bras Cardiol*. 2010;5(Supl.1):1-51.
- World Health Organization. A global brief on hypertension: silent killer, global public health crisis. Geneva: WHO; 2013.
- Martins LC, Figueiredo VN, Quinaglia T, et al. Characteristics of resistant hypertension: ageing, body mass index, hyperaldosteronism, cardiac hypertrophy and vascular stiffness. *J Hum Hypertens*. 2011;25(9):532-8. PMID:20927128. <http://dx.doi.org/10.1038/jhh.2010.95>.
- Lima FAT, Araújo TL, Lopes MVO, Silva LF, Monteiro ARM, Oliveira SKP. Fatores de risco da doença coronariana em pacientes que realizaram revascularização miocárdica. *Rev Rene*. 2012 [citado em 2016 mar 02];13:853-60. <http://www.revistarene.ufc.br/revista/index.php/revista/article/viewFile/1080/pdf>
- Anyagbù El, Dharnidharka VR. Hypertension in the Teenager. *Pediatr Clin North Am*. 2014;61(1):131-51. PMID:24267462. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2013.09.011>.
- Nobre F, Coelho EB, Lopes PC, Geleilete TJM. Hipertensão arterial sistêmica primária. *Medicina*. 2013 [citado em 2016 mar 02];46:256-272. [http://revista.fmrp.usp.br/2013/vol46n3/rev\\_Hipertens%E3%20arterial%20sist%EAmica%20prim%E1ria.pdf](http://revista.fmrp.usp.br/2013/vol46n3/rev_Hipertens%E3%20arterial%20sist%EAmica%20prim%E1ria.pdf)
- Grassi G. Sympathetic neural activity in hypertension and related diseases. *Am J Hypertens*. 2010;23(10):1052-60. PMID:20651696. <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2010.154>.
- Prati C, Demougeot C, Guillot X, Godfrin-Valnet M, Wendling D. Endothelial dysfunction in joint disease. *Joint Bone Spine*. 2014;81(5):386-91. PMID:24565889. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2014.01.014>.
- Pereira AC, Paulo M, Araújo AV, Rodrigues GJ, Bendhack LM. Nitric oxide synthesis and biological functions of nitric oxide released from ruthenium compounds. *Braz J Med Biol Res*. 2011;44(9):947-57. PMID:21755266. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2011007500084>.
- Dias RG, Negrão CE, Krieger MH. Óxido nítrico y sistema cardiovascular: activación celular, reactividad vascular y variante genética. *Arq Bras Cardiol*. 2011 [citado em 2016 mar 02];96(1):68-75. [http://www.scielo.br/pdf/abc/v96n1/es\\_v96n1a12](http://www.scielo.br/pdf/abc/v96n1/es_v96n1a12) PMID:21308339.
- Ando J, Yamamoto K. Effects of shear stress and stretch on endothelial function. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(5):1389-403. PMID:20854012. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2010.3361>.
- Ferreira LB, Albuquerque AAS, Celotto AC. Fator hiperpolarizante derivado do endotélio e doenças cardiovasculares. *Rev Soc Cardiol*. 2011;21:40-5.
- Melo JB, Figueiredo JAF No, Campos RCA, Meireles MF, Costa ECC, Leal MCM. Estudo da função endotelial no Brasil: prevenção de doenças cardiovasculares. *Rev Bras Cardiol*. 2014;27:616-23.
- Menezes IAC, Santos MRV, Cunha CLP. O índice de perfusão da oximetria de pulso na avaliação da função endotelial na aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2014;102:237-44. PMID:24676228.
- Dillenburg DR, Mostarda C, Moraes-Silva IC, et al. Resveratrol and grape juice differentially ameliorate cardiovascular autonomic

- modulation in L-NAME-tread rats. *Auton Neurosci*. 2013;179(1-2):17. PMID:23810687. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autneu.2013.06.002>.
29. Nakmareong S, Kukongviriyapan U, Pakdeechote P, et al. Tetrahydrocurcumin alleviates hypertension, aortic stiffening and oxidative stress in rats with nitric oxide deficiency. *Hypertens Res*. 2012;35(4):418-25. PMID:22072109. <http://dx.doi.org/10.1038/hr.2011.180>.
  30. Lee S, Park Y, Zuidema MY, Hannink M, Zhang C. Effects of interventions on oxidative stress and inflammation of cardiovascular diseases. *World J Cardiol*. 2011;26(1):18-24. PMID:21286214. <http://dx.doi.org/10.4330/wjc.v3.i1.18>.
  31. Forstermann U, Sessa WC. Nitric synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-37, 837a-837d. PMID:21890489. <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>.
  32. Arora AR, Demarco VG, Jia G, et al. The role of tissue Renin-Angiotensin-Aldosterone system in the development of endothelial dysfunction and arterial stiffens. *Front Endocrinol*. 2013;4:161. PMID:24194732. <http://dx.doi.org/10.3389/fendo.2013.00161>.
  33. Petrella E, Pignatti L, Neri I, Facchinetti F. The L-arginine/nitric oxide pathway is impaired in overweight/obese pregnant women. *Pregnancy Hypertens*. 2014;4(2):150-5. PMID:26104420. <http://dx.doi.org/10.1016/j.preghy.2014.01.001>.
  34. Zhang X, Lynch AJ, Davis BR, et al. Pharmacogenetic association of NOS3 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension: the genhat study. *PLoS One*. 2012;7(3):e34217. PMID:22470539. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0034217>.
  35. Teixeira BCA, Lopes AL, Macedo RCO, et al. Marcadores inflamatórios, função endotelial e riscos cardiovasculares. *J Vasc Bras*. 2014;13:2. <http://dx.doi.org/10.1590/jvb.2014.054>.
  36. Bressler J, Pankow JS, Coresh J, Boerwinkle E. Interaction between the NOS3 Gene and obesity as a determinant of risk of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *PLoS One*. 2013;8(11):e79466. PMID:24278136. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0079466>.
  37. Ghasemi A, Zahediasl S, Azizi F. Reference values for serum nitric oxide metabolites in an adult population. *Clin Biochem*. 2010;43(1-2):89-94. PMID:19782059. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.09.011>.
  38. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci*. 2013;9(10):1057-69. PMID:24250251. <http://dx.doi.org/10.7150/ijbs.7502>.
  39. Celik M, Ilysoy A, Celik T, Yilmaz MI, Yuksel UC, Yaman H. The relationship between L-arginine/ADMA ratio and coronary collateral development in patients with low glomerular filtration rate. *Cardiol J*. 2012;19(1):29-35. PMID:22298165. <http://dx.doi.org/10.5603/CJ.2012.0006>.
  40. Sharma V, Ten-Have GA, Ytrebo L, et al. Nitric oxide and L-arginine metabolism in a devascularized porcine model of acute liver failure. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;303(3):G435-41. PMID:22421619. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00268.2011>.
  41. Veresh Z, Debreczeni B, Hamar J, Kaminski PM, Wolin MS, Koller A. Asymmetric dimethylarginine reduces nitric oxide donor-mediated dilation of arterioles by activating the vascular renin-angiotensin system and reactive oxygen species. *J Vasc Res*. 2012;49(4):363-72. PMID:22652896. <http://dx.doi.org/10.1159/000337485>.
  42. Nishiyama Y, Ueda M, Katsura KI, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a possible risk marker for ischemic stroke. *J Neurol Sci*. 2010;290(1-2):12-5. PMID:20060545. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2009.12.020>.
  43. Hirooka Y, Kishi T, Sakai K, Takeshita U, Sunagawa K. Imbalance of central nitric oxide and reactive oxygen species in the regulation of sympathetic activity and neural mechanisms of hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011;300(4):R818-26. PMID:21289238. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpregu.00426.2010>.
  44. Rocha MS, Teerlink T, Janssen MCH, et al. Asymmetric dimethylarginine in adults with cystathionine  $\beta$ -synthase deficiency. *Atheroscler*. 2012;222(2):509-11. PMID:22484094. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.009>.
  45. Nemeth Z, Cziraki A, Szabados S, Biri B, Keki S, Koller A. Elevated levels of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in the pericardial fluid of cardiac patients correlate with cardiac hypertrophy. *PLoS One*. 2015;10(8):e0135498. PMID:26313940. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0135498>.
  46. Hu X, Atzler D, Xu X, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 is the critical enzyme for degrading the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(7):1540-6. PMID:21493890. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.222638>.
  47. Liu X, Fassett J, Wei Y, Chen Y. Regulation of DDAH1 as a potential therapeutic target for treating cardiovascular diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:619207. PMID:23878601.
  48. Caplin B, Wang Z, Slaviero A, et al. Alanine-glyoxylate aminotransferase-2 metabolizes endogenous methylarginines, regulates NO, and controls blood pressure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(12):2892-900. PMID:23023372. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.254078>.
  49. Caplin B, Leiper J. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors in the biology of disease: markers, mediators, and regulators? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(6):1343-53. PMID:22460557. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.247726>.
  50. Davids M, van Hell AJ, Visser M, Nijveldt RJ, van Leeuwen PA, Teerlink T. Role of the human erythrocyte in generation and storage of asymmetric dimethylarginine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;302(8):1762-70. PMID:22367507. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.01205.2011>.
  51. Davids M, Teerlink T. Plasma concentrations of arginine and asymmetric dimethylarginine do not reflect their intracellular concentrations in peripheral blood mononuclear cells. *Metabolism*. 2013;62(10):1455-61. PMID:23890667. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.05.017>.
  52. Sibal L, Agarwal SC, Home PD, Boger RH. The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. *Curr Cardiol Rev*. 2010;6(2):82-90. PMID:21532773. <http://dx.doi.org/10.2174/157340310791162659>.
  53. Malyszko J, Koc-Zorawska E, Matuszkiewicz-Rowinska J, Malyszko J. FGF23 and Klotho in relation to markers of endothelial dysfunction in kidney transplant recipients. *Transplant Proc*. 2014;46(8):2647-50. PMID:25380886. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2014.09.015>.
  54. Tripepi G, Kollerits B, Leonardi D, et al. Competitive interaction between fibroblast growth factor 23 and asymmetric dimethylarginine in patients with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(4):935-44. PMID:25150156. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2013121355>.
  55. Reriani MK, Lerman LO, Lerman A. Endothelial function as a functional expression of cardiovascular risk factors. *Biomark Med*. 2010;4(3):351-60. PMID:20550469. <http://dx.doi.org/10.2217/bmm.10.61>.
  56. Hirata Y, Nagata D, Suzuki E, Nishimatsu H, Suzuki J, Nagai R. Diagnosis and treatment of endothelial dysfunction in cardiovascular disease. *Int Heart J*. 2010;51(1):1-6. PMID:20145343. <http://dx.doi.org/10.1536/ihj.51.1>.
  57. Sen S, McDonald SP, Coates PT, Bonder CS. Endothelial progenitor cells: novel biomarker and promising cell therapy for cardiovascular

- disease. *Clin Sci (Lond)*. 2011;120(7):263-83. PMID:21143202. <http://dx.doi.org/10.1042/CS20100429>.
58. Lee PS, Poh KK. Endothelial progenitor cells in cardiovascular diseases. *World J Stem Cells*. 2014;26(3):355-66. PMID:25126384.
  59. McEvoy JW, Chen Y, Nambi V, et al. High-sensitivity cardiac troponin T and risk of hypertension. *Circulation*. 2015;132(9):825-33. PMID:26152706. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014364>.
  60. Bugnicourt JM, Rogez V, Guillaumont MP, Rogez JC, Canaple S, Godefroy O. Troponin levels help predict new-onset atrial fibrillation in ischaemic stroke patients: a retrospective study. *Eur Neurol*. 2010;63(1):24-8. PMID:19923841. <http://dx.doi.org/10.1159/000258679>.
  61. Tu HT, Campbell BC, Churilov L, et al. Frequent early cardiac complications contribute to worse stroke outcome in atrial fibrillation. *Cerebrovasc Dis*. 2011;32(5):454-60. PMID:22005390. <http://dx.doi.org/10.1159/000332028>.
  62. Lackland DT, Elkind MS, D'Agostino R Sr, et al. Inclusion of stroke in cardiovascular risk prediction instruments: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2012;43(7):1998-2027. PMID:22627990. <http://dx.doi.org/10.1161/STR.0b013e31825bcdac>.
  63. Brondum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG. 25-hydroxyvitamin D levels and risk of ischemic heart disease, myocardial infarction, and early death: population-based study and meta-analyses of 18 and 17 studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(11):2794-802. PMID:22936341. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.248039>.
  64. Grandi NC, Breitling LP, Brenner H. Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med*. 2010;51(3-4):228-33. PMID:20600257. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2010.06.013>.
  65. Sokol SI, Tsang P, Aggarwal V, Melamed ML, Srinivas VS. Vitamin d status and risk of cardiovascular events: lessons learned via systematic review and meta-analysis. *Cardiol Rev*. 2011;19(4):192-201. PMID:21646873. <http://dx.doi.org/10.1097/CRD.0b013e31821da9a5>.
  66. Wang L, Song Y, Manson JE, et al. Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2012;5(6):819-29. PMID:23149428. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.112.967604>.
  67. Lou YR, Molnár F, Peräkylä M, et al. 25-Hydroxyvitamin D(3) is an agonistic vitamin D receptor ligand. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;118(3):162-70. PMID:19944755. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2009.11.011>.
  68. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics-2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125(1):e2-220. PMID:22179539. <http://dx.doi.org/10.1161/CIR.0b013e31823ac046>.
  69. Yanik M, Feig DI. Serum urate: a biomarker or treatment target in pediatric hypertension? *Curr Opin Cardiol*. 2013;28(4):433-8. PMID:23736817.
  70. Grassi D, Ferri L, Desideri G, et al. Chronic hyperuricemia, uric acid deposit and cardiovascular Risk. *Curr Pharm Des*. 2013;19(13):2432-8. PMID:23173592. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612811319130011>.
  71. Kaufman M, Guglin M. Uric acid in heart failure: a biomarker or therapeutic target? *Heart Fail Rev*. 2013;18(2):177-86. PMID:22584465. <http://dx.doi.org/10.1007/s10741-012-9322-2>.
  72. Mamas M, Dunn WB, Neyeses L, Goodacre R. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. *Arch Toxicol*. 2011;85(1):5-17. PMID:20953584. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-010-0609-6>.
  73. Zhao Y-Y, Cheng X-L, Vaziri ND, Liu S, Lin R-C. UPLC-based metabonomic applications for discovering biomarkers of diseases in clinical chemistry. *Clin Biochem*. 2014;47(15):16-26. PMID:25087975. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.07.019>.
  74. Kessler T, Erdmann J, Dichgans M, Schunkert H. Shared genetic aetiology of coronary artery disease and atherosclerotic stroke-2015. *Curr Atheroscler Rep*. 2015;17(4):498. PMID:25690589. <http://dx.doi.org/10.1007/s11883-015-0498-5>.
  75. O'Donnell CJ, Nabel EG. Genomics of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2011;365(22):2098-109. PMID:22129254. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1105239>.
  76. Zhao YY, Cheng XL, Vaziri ND, Liu S, Lin RC. UPLC-based metabonomic applications for discovering biomarkers of diseases in clinical chemistry. *Clin Biochem*. 2015;47(15):16-26. PMID:25087975. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.07.019>.
  77. Giannakoulas G, Dimopoulos K, Bolger AP, et al. Usefulness of natriuretic Peptide levels to predict mortality in adults with congenital heart disease. *Am J Cardiol*. 2010;105(6):869-73. PMID:20211335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.11.041>.
  78. Goff DC Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation*. 2014;129(25, Suppl2):S49-73. PMID:24222018. <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000437741.48606.98>.
  79. Mokra D, Kosutova P. Biomarkers in acute lung injury. *Respir Physiol Neurobiol*. 2014;209:52-8. PMID:25466727.

---

#### Correspondence

Josynaria Araújo Neves  
 Universidade Federal do Piauí – UFPI  
 Campus Universitário Ministro Petrônio Portela  
 Avenida Universitária, s/n – Ininga  
 CEP 64049-550 - Teresina (PI), Brazil  
 E-mail: josynaria@hotmail.com

#### Author information

JAN - Biologist, PhD candidate at Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Centro de Ciências da Saúde, Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais.  
 JAN - Biologist, Food technologist and PhD candidate at Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Centro de Ciências da Saúde, Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais; Professor at Instituto Federal do Maranhão (IFMA).  
 RCMO - Professor at Universidade Federal do Piauí (UFPI), Centro de Ciências da Saúde, Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais.

#### Author contributions

Conception and design: JAN, JAN  
 Analysis and interpretation: JAN, JAN  
 Data collection: JAN, JAN  
 Writing the article: JAN, JAN  
 Critical revision of the article: JAN, JAN, RCMO  
 Final approval of the article\*: JAN, JAN, RCMO  
 Statistical analysis: N/A.  
 Overall responsibility: JAN, JAN, RCMO

\*All authors have read and approved of the final version of the article submitted to *J Vasc Bras*.