

DIMETILARGININA SIMETRICĂ (SDMA) ȘI ULCERUL
VENOS AL MEMBRELOR INFERIOARESYMMETRICAL DIMETHYLARGININE (SDMA)
AND VENOUS ULCER OF THE LOWER LIMBS

ILINCA NICOLAE*, MIRCEA TAMPA*,**, MARIA GRIGORE*, CRISTINA IULIA MITRAN**,***,
MĂDĂLINA IRINA MITRAN**,***, LUCREȚIA DULGHERU*, SIMONA ROXANA GEORGESCU*,**

Rezumat

Modificările posttranzlaționale (metilarea, fosforilarea, glicozilarea, acetilarea) ale proteinelor joacă un rol important în controlul proceselor celulare. Metilarea argininei încorporată în proteine duce la formarea monometil argininei (MMA), dimetilargininei simetrice (SDMA) și dimetilargininei asimetrice (ADMA). Acumularea ADMA și MMA în celule și în fluxul sanguin a fost asociată cu diverse condiții patologice, în timp ce SDMA a fost privită ca un compus inert din punct de vedere fiziologic. Astăzi este dovedit că, SDMA inhibă producția de NO prin blocarea absorbției celulare de L-arginina. În studiul prezent, am dovedit că nivelul SDMA este semnificativ crescut la pacienții cu ulcer venos de gambă (17 cazuri), comparativ cu lotul control (15 cazuri). De notat că acesta este primul studiu care examinează variațiile serice ale SDMA în afecțiuni dermatologice. În concluzie, datele noastre arată că SDMA ar putea contribui la fiziopatogeneza ulcerului venos de gambă.

Cuvinte cheie: ulcer venos de gambă, modificări posttranzlaționale, metilarea argininei, dimetilarginina simetrică.

Intrat în redacție: 2.12.2019

Acceptat: 20.01.2020

Summary

Post-translational modifications (methylation, phosphorylation, glycosylation, acetylation) of proteins play an important role in controlling cellular processes. Methylation of protein-embedded arginine results in the formation of monomethyl arginine (MMA), symmetrical dimethylarginine (SDMA) and asymmetrical dimethylarginine (ADMA). The accumulation of ADMA and MMA in cells and in the blood stream has been associated with various pathological conditions, while SDMA has been regarded as a physiologically inert compound. Today it is proven that SDMA inhibits the production of NO by blocking the cellular uptake of L-arginine. In the present study, we have shown that the level of SDMA is significantly increased in patients with venous leg ulcer (17 cases), compared to the control group (15 cases). It should be noted that this is the first study examining serum variations of SDMA in dermatological conditions. In conclusion, our data show that SDMA may contribute to the pathophysiology of venous leg ulcer.

Keywords: venous leg ulcer, posttranslational modifications, arginine methylation, symmetrical dimethylarginine.

Received: 2.12.2019

Accepted: 20.01.2020

- * Clinica Dermatologie, Spitalul Clinic de Boli infecțioase "Victor Babeș", București, România
Department of Dermatology, 'Victor Babeș' Clinical Hospital for Infectious Diseases, Bucharest, Romania.
- ** Clinica Dermatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, România
Department of Dermatology, 'Carol Davila' University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania.
- *** Institutul Național Medico-Militar pentru Cercetare și Dezvoltare „Cantacuzino”, București, România.
'Cantacuzino' National Medico-Military Institute for Research and Development, Bucharest, Romania.

Introducere

Insuficiența venoasă cronică (IVC) afectează în jur de 2% din populația generală. Unul din cinci pacienți cu IVC dezvoltă ulcer venos, ulcerile venoase reprezentând 80% dintre ulcerile de la nivelul membrului inferior. Ulcerele venoase se localizează cel mai frecvent la nivelul gambei, în zona medială. Din punct de vedere clinic, sunt nedureroase în majoritatea cazurilor, pot fi superficiale sau profunde, cu dimensiuni variate, de obicei cu margini neregulate însoțite și de alte modificări precum edemul, dermatita de stază. La nivelul bazei ulcerului se poate observa țesut de granulație sau depozite de fibrină. Patogeneza ulcerului venos de gambă nu este pe deplin înțeleasă, numeroși factori fiind implicați [1-3].

L-arginina este substratul comun al nitric oxid sintazelor (NOS, E.C.1.14.1.39) și arginazelor (E.C.3.5.3.1). NOS catalizează L-arginina pentru a genera oxid nitric (NO) și L-citrulina, în timp ce arginazele catalizează conversia L-argininei în L-ornitină și uree. Prin urmare, activitatea crescută a arginazei poate diminua biodisponibilitatea L-argininei prin concurența substratului și poate scădea producția de NO, ceea ce duce la disfuncție endotelială și la apariția unor complicații circulatorii [4-17]. S-a evidențiat existența a trei izoforme NOS diferite: NOS neuronale (nNOS), endoteliale (eNOS) și izoenzima NOS inductibilă (iNOS). O altă cale de reglare a producției de NO este mediată de arginina metilată: L-NG-mono-metil arginină (MMA), dimetilarginină asimetrică (ADMA) și dimetilarginină simetrică (SDMA) (figura 1). MMA și ADMA sunt inhibitori endogeni competitivi puternici ai NOS, în timp ce SDMA inhibă producția de NO în principal prin blocarea absorbției a L-arg [4-7]. Nivelurile plasmatice crescute atât de ADMA, cât și de SDMA sunt asociate cu un risc crescut de boli cardiovasculare în populația generală [7].

Dimetilarginina asimetrică (ADMA) și L-NG-monometil arginina (MMA) sunt inhibitori puternici ai NOS, în timp ce dimetilarginina simetrică (SDMA) este inhibitor competitiv al transportorilor cationici (CAT) și inhibă aprovizionarea celulelor cu arginină.

NO este implicat în evenimente celulare și moleculare ale vindecării plăgilor, adică vaso-

Introduction

Chronic venous insufficiency (IVC) affects about 2% of the general population. One in five patients with IVC develops venous ulcer, with venous ulcers accounting for 80% of the ulcers in the lower limb. Venous ulcers are most commonly located at the level of the calf (lower leg), in the medial area. From a clinical point of view, they are painless in most cases, they can be superficial or deep, with various sizes, usually with irregular edges accompanied by other changes such as oedema, stasis dermatitis. At the base of the ulcer, granulation tissue or fibrin deposits can be seen. The pathogenesis of venous ulcer of the calf is not fully understood, many factors being involved [1-3].

L-arginine is the common substrate of nitric oxide synthases (NOS, E.C.1.14.1.39) and arginases (E.C.3.5.3.1). NOS catalyses L-arginine to generate nitric oxide (NO) and L-citrulline, while arginases catalyse the conversion of L-arginine to L-ornithine and urea. Therefore, the increased activity of arginase can decrease the bioavailability of L-arginine by substrate competition and may decrease NO production, leading to endothelial dysfunction and circulatory complications [4-17]. The existence of three different NOS isoforms was highlighted: neuronal NOS (nNOS), endothelial (eNOS) and inducible NOS isoenzyme (iNOS). Another way of regulating NO production is mediated by methylated arginine: L-NG-monomethyl arginine (MMA), asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and symmetrical dimethylarginine (SDMA) (Figure 1). MMA and ADMA are potent competitive endogenous inhibitors of NOS, while SDMA inhibits NO production mainly by blocking the uptake of L-arg [4-7]. Increased plasma levels of both ADMA and SDMA are associated with an increased risk of cardiovascular disease in the general population [7].

Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and L-NG-monomethyl arginine (MMA) are potent inhibitors of NOS, while symmetrical dimethylarginine (SDMA) is a competitive inhibitor of cationic transporters (CAT) and inhibits arginine supply to cells.

NO is involved in cellular and molecular events of wound healing, i.e. vasodilation, angiogenesis, inflammation, cell proliferation,

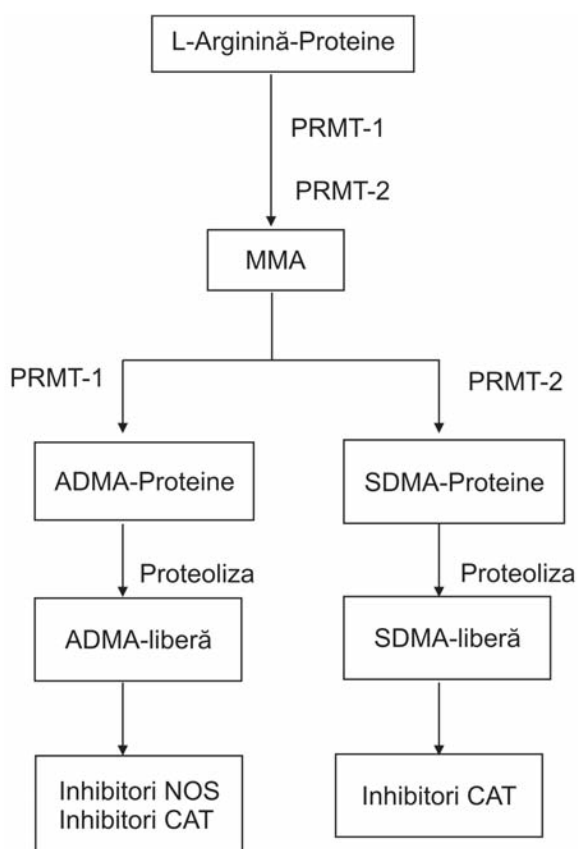


Figura 1. Sinteza intranucleară posttranslațională a metilargininelor catalizată de protein-arginin metiltransferaze (PRMTs), adaptată după Chandrasekharan și colab. [7].

dilatație, angiogeneză, inflamație, proliferare celulară, fibroză tisulară, răspuns imun și remodelare [17]. Importanța NO a fost demonstrată prin vindecarea întârziată a plăgilor pe modele animale cu sinteză de NO modificată genetic. NO exercită și activitate antimicrobiană [18]. Pe baza argumentelor prezentate, se poate concluda că SDMA ar putea influența patogeniza ulcerului venos de gambă. Această posibilă constatare, care va fi analizată în lucrarea prezentă, ar putea contrazice supoziția că SDMA este o moleculă inertă [6].

Partea experimentală

Selectarea pacienților

Au fost monitorizați 17 pacienți cu ulcer venos de gambă, fără sindrom metabolic și fără

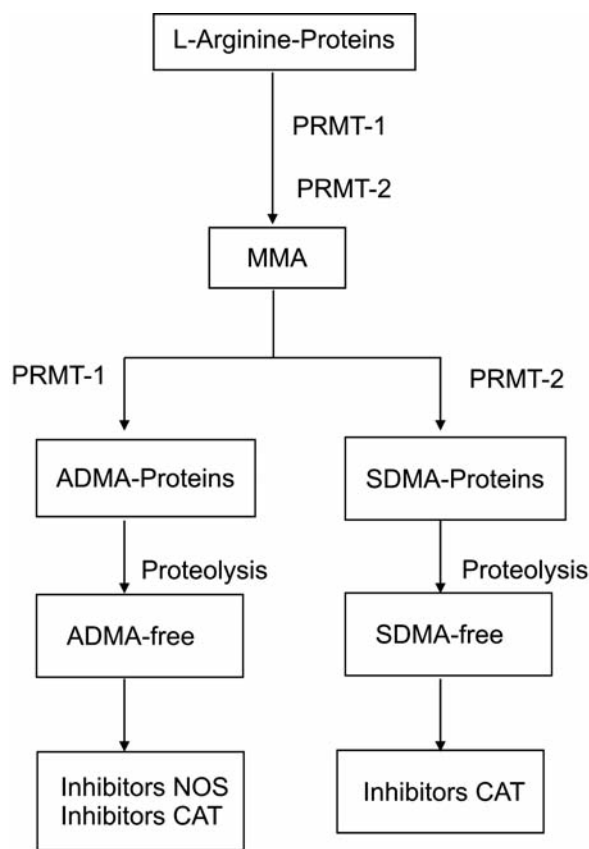


Figure 1. Posttranslational intranuclear synthesis of methylarginines catalysed by protein-arginine methyltransferases (PRMTs), adapted from Chandrasekharan et al. [7].

tissue fibrosis, immune response and remodelling [17]. The importance of NO was demonstrated by delayed wound healing in animal models with genetically modified NO synthesis. NO exerts antimicrobial activity [18]. Based on the arguments presented, it can be concluded that SDMA could influence the pathogenesis of venous leg ulcer. This possible finding, which will be analysed in the present paper, may contradict the assumption that SDMA is an inert molecule [6].

Experimental part

Patient selection.

17 patients with venous leg ulcer, without metabolic syndrome and without major signs of infection were monitored. Patients with diabetes,

semne majore de infecție. Au fost excluși pacienții cu diabet zaharat, boală aterosclerotică, poliartrită reumatoidă, vasculită sistemică, patologie renală și obezitate. Diagnosticul de ulcer venos de gambă s-a stabilit pe criterii clinice, paraclinice și histologice (când a fost necesară excluderea altor diagnostice), prezentate în secțiunea **Rezultate**.

Tehnici de laborator

Probele de sânge au fost recoltate dimineața. Centrifugarea probelor de sânge s-a făcut la 3000 g, timp de 10 minute, după o oră de la recoltare. Serurile au fost separate și stocate la minus 80°C până când au fost utilizate pentru analiză. Au fost eliminate probele hemolizate, icterice, lactescente, contaminate.

Determinarea SDMA s-a făcut prin tehnica ELISA varianta competitivă (Elabsience, USA). Metoda prezintă sensibilitate (0,09 nmoli/ml), reproductibilitate (95-97%), repetabilitate (coeficient de variație sub 10%), specificitate pentru SDMA, nu prezintă reacții încrucișate sau interferențe cu alți analogi structurali, are domeniu larg de detecție (0,16-10 nmoli/ml), este ieftină (se folosesc cantități de 50 μl de reactivi), noniradiantă, rapidă (durează câteva ore), adaptată pentru un spectru larg de probe biologice (ser, plasmă, urină, omogenat tisular, lizat celular). Tehnica utilizează un anticorp primar, specific pentru SDMA, nemarcat enzimatic, și un anticorp secundar, specific pentru anticorpul primar, marcat enzimatic. Intensitatea culorii galbene, măsurabilă la 450 nm, este invers proporțională cu concentrația SDMA din probă. O concentrație de SDMA mare în probă scade semnalul fotometric. SDMA din probe se calculează pe baza curbei standard elaborată în condiții experimentale identice. Valorile SDMA obținute la pacienții cu ulcer varicos (17 cazuri) au fost raportate la valorile de referință obținute la un lot control (15 cazuri).

Rezultate

Diagnosticul de ulcer venos s-a bazat pe date anamnestice (istoric de IVC), examen clinic local (ulcerație la nivelul membrelor inferioare, nedureroasă, cu diferite dimensiuni, cu margini nete), examen Doppler venos (semne de IVC). Histopatologic, ulcerul venos de gambă se poate caracteriza prin țesut de granulație și depozite de fibrină (Figura 2).

atherosclerotic disease, rheumatoid arthritis, systemic vasculitis, renal pathology and obesity were excluded. The diagnosis of venous leg ulcer was established on clinical, paraclinical and histological criteria (when it was necessary to exclude other diagnoses), presented in the Results section.

Laboratory techniques

Blood samples were collected in the morning. Centrifugation of blood samples was done at 3000g, for 10 minutes, one hour after harvesting. Serums were separated and stored at minus 80m C until used for analysis. Homolysed, jaundice, lactating, and contaminated samples were removed.

SDMA determination was performed using the competitive ELISA variant (Elabsience, USA). The method has sensitivity (0.09nmol/ml), reproducibility (95-97%), repeatability (coefficient of variation below 10%), specificity for SDMA, has no cross-reactions or interferences with other structural analogues, has a wide range of detection (0.16-10 nmol / ml), it is cheap (50 Ml quantities of reagents are used), non-irradiant, fast (takes several hours), adapted for a wide range of biological samples (serum, plasma, urine, tissue homogenate, cell lysates). The technique uses a primary antibody, specific for SDMA, not labelled enzymatically, and a secondary antibody, specific for the primary antibody, enzymatically labelled. The intensity of the yellow colour, measurable at 450 nm, is inversely proportional to the SDMA concentration in the sample. A high SDMA concentration in the sample decreases the photometric signal. The SDMA from the samples is calculated based on the standard curve elaborated under identical experimental conditions. The SDMA values obtained in the patients with venous ulcer (17 cases) were compared with the reference values obtained in a control group (15 cases).

Results

The diagnosis of venous ulcer was based on anamnestic data (IVC history), local clinical examination (lower limb ulceration, painless, with different sizes, with clean edges), venous Doppler examination (IVC signs). Histopathologic ally, venous leg ulcer can be characterized by granulation tissue and fibrin deposits (Figure 2).

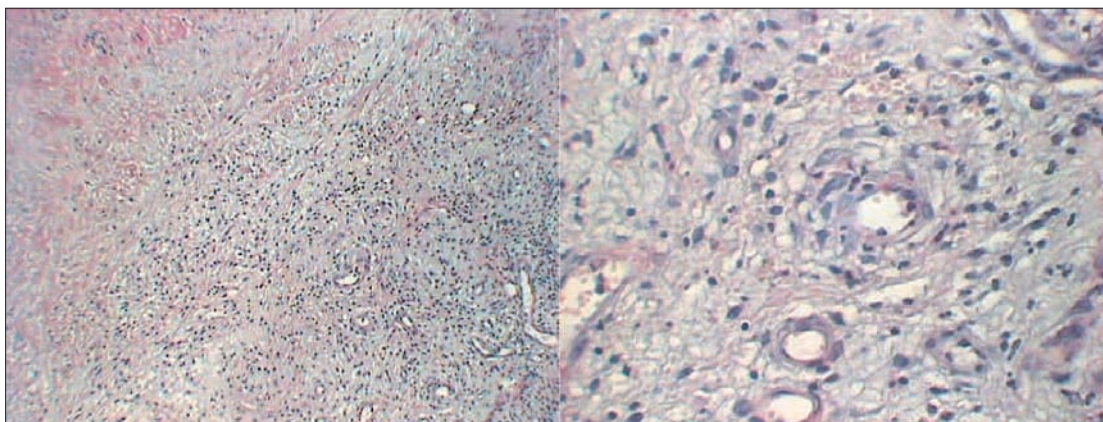


Figura 2. Fragment biopsic de ulcer venos de gambă la nivelul căruia se observă țesut de granulație (colorația hematoxilină-eozină)

Figure 2. Biopsy fragment of venous leg ulcer in which granulation tissue is observed (haematoxylin and eosin stain)

Determinarea SDMA la pacienții cu ulcer venos de gambă s-a făcut în condiții identice cu determinările la lotul control. Cele două loturi selectate au avut particularități demografice asemănătoare. În ambele loturi nivelele serice ale glucozei, ureei, creatininei și profilul lipidic au fost în limite normale. Markerii serici de inflamație, viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) și proteina C reactivă (PCR), au prezentat variații semnificative statistic între cele două loturi ($p < 0.05$) (tabel 1).

SDMA determination in patients with venous leg ulcer was performed under conditions identical to those determined in the control group. The two selected groups had similar demographic characteristics. In both groups, serum levels of glucose, urea, creatinine and lipid profile were within normal limits. Serum markers of inflammation, red blood cell sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) showed statistically significant variations between the two groups ($p < 0.05$) (table 1).

Tabel 1. Caracteristici ale participanților la studiu

Parametri	Ulcer de gambă (17 cazuri)	Control (15 cazuri)
Femei/ Bărbați	9/8	8/7
Vârsta (ani)	60.9(55-72)	59.2(50-70)
Fumători/Nefumători	3/14	2/13
BMI (kg/mp)	25.2(23.5-28.1)	23.4(21.4-25.5)
Durata bolii (luni)	peste 3 luni	-
Glicemia (mg/dl)	88(72-109)	76(68-93)
Uree (mg/dl)	38 (23-55)	27(18-38)
Creatinina (mg/dl)	87(55-118)	66(53-98)
Trigliceride (mg/dl)	94(66-140)	79(47-90)
Colesterol (mg/dl)	193(143-237)	132(126-215)
VSH (mm/h)	17(9-40)	4(1-9)*
PCR (mg/dl)	0.85(0.2-2.3)	0.1(0.0-0.2)*

* $p < 0.05$ (ulcer de gambă versus control), p-nivel de semnificație statistică.

Table 1. Characteristics of the study participants

Parameters	Leg ulcer (17 cases)	Control (15 cases)
Women/Men	9/8	8/7
Age (years)	60.9(55-72)	59.2(50-70)
Smokers/Non-smokers	3/14	2/13
BMI (kg/mp)	25.2(23.5-28.1)	23.4(21.4-25.5)
Duration of the disease (months)	over 3 months	-
Blood glucose (mg/dl)	88(72-109)	76(68-93)
Urea (mg/dl)	38 (23-55)	27(18-38)
Creatinine (mg/dl)	87(55-118)	66(53-98)
Triglyceride (mg/dl)	94(66-140)	79(47-90)
Cholesterol (mg/dl)	193(143-237)	132(126-215)
ESR (mm/h)	17(9-40)	4(1-9)*
CRP (mg/dl)	0.85(0.2-2.3)	0.1(0.0-0.2)*

* $p < 0.05$ (leg ulcer versus control), p-level of statistical significance.

În studiul nostru, nivelurile serice ale SDMA au fost semnificativ crescute la pacienții cu ulcer venos de gambă în comparație cu lotul control (tabel 2).

Tabel 2. Nivelul SDMA la pacienții cu ulcer de gambă și control

SDMA (nmoli/ml)	Ulcer varicos	Control	Valoarea p
Domeniul de variație	0.59-1.38	0.45 – 0.61	<0.001
Valoarea medie	1.04	0.51	

p-nivel de semnificație statistică (ulcer varicos versus control).

Discuții

Constatări actuale [4] arată că nivelurile ADMA și SDMA sunt crescute, iar raporturile Arg / ADMA și Arg / SDMA sunt semnificativ reduse la pacienții cu plăgi cronice, ceea ce indică o disponibilitate redusă de NO și, respectiv, arginină. În studiul nostru am dovedit că nivelul SDMA este semnificativ crescut la pacienții cu ulcer venos de gambă, comparativ cu lotul de control. De notat că, acesta este primul studiu care abordează comportamentul SDMA în patogeneza ulcerului venos de gambă. SDMA a fost considerat un metabolit inert, dar pentru că poate fi transportat în celule, s-a studiat efectul SDMA asupra celulelor endoteliale glomerulare [6]. SDMA a suprimat fosforilarea VEGF, activitatea eNOS, producerea de oxid nitric, dar nu și activarea și semnalizarea VEGFR2 care duce la activarea eNOS. SDMA a provocat decuplarea eNOS și creșterea producției de superoxid ca răspuns la VEGF. Toate aceste efecte au fost blocate prin prevenirea absorbției celulare de SDMA cu un exces molar de arginină. Aceste date arată că SDMA interferează cu producția de oxid nitric prin decuplarea eNOS, proces asociat cu apariția stresului oxidativ în endoteliul renal [6, 13, 16, 18]. Datele noastre arată că SDMA nu este un metabolit inert și că ar putea contribui la fiziopatogeneza ulcerului venos de gambă.

SDMA poate avea un efect indirect asupra sintezei de NO [6-10]. SDMA inhibă transportorul aminoacizilor cationici care mediază absorbția intracelulară a L-argininei și inhibă absorbția renală a argininei tubulare. Aceste două mecanisme ar putea inhiba indirect sinteza NO

In our study, serum levels of SDMA were significantly increased in patients with leg venous ulcer compared with the control group (Table 2).

Table 2. SDMA level in patients with leg ulcer and control group

SDMA (nmol/ml)	Venous ulcer	Control	p value
Range of variation	0.59-1.38	0.45 – 0.61	<0.001
Average value	1.04	0.51	

p-level of statistical significance (venous ulcer versus control).

Discussions

Current findings [4] show that ADMA and SDMA levels are elevated, and Arg/ADMA and Arg/SDMA ratios are significantly reduced in patients with chronic wounds, indicating reduced availability of NO and arginine, respectively. In our study we have shown that the level of SDMA is significantly increased in patients with venous leg ulcer, compared to the control group. It should be noted that this is the first study addressing the behaviour of SDMA in the pathogenesis of venous leg ulcer. SDMA has been considered an inert metabolite, but because it can be transported into cells, the effect of SDMA on glomerular endothelial cells has been studied [6]. SDMA suppressed VEGF phosphorylation, eNOS activity, nitric oxide production, but not VEGFR2 activation and signalling leading to eNOS activation. SDMA caused eNOS uncoupling and increased superoxide production in response to VEGF. All of these effects were blocked by preventing cellular uptake of SDMA with a molar excess of arginine. These data show that SDMA interferes with nitric oxide production by eNOS uncoupling, a process associated with the occurrence of oxidative stress in the renal endothelium [6, 13, 16, 18]. Our data show that SDMA is not an inert metabolite and could contribute to the pathophysiology of venous leg ulcer.

SDMA may have an indirect effect on the synthesis of NO [6-10]. SDMA inhibits the transport of cationic amino acids that mediate intracellular uptake of L-arginine and inhibit renal uptake of tubular arginine. These two mechanisms could indirectly inhibit NO syn-

prin blocarea absorbției de L-arginină. *In vitro*, SDMA inhibă producția de NO în celulele endoteliale. În plus, nivelurile plasmatiche ale SDMA sunt asociate negativ cu raportul L-arginină/ADMA, un indicator al producției de NO in vivo [7]. SDMA crește producția de ROS în monocite stimulate cu N-formil-Met-Leu-Phe (fMLP) prin modularea influxului de calciu via canale de calciu (engl. *store-operated calcium channels* – SOC). SDMA induce creșterea producției endoteliale de ROS, efect asociat cu reducerea absorbției de Arg și inhibiția producției de NO [9, 10].

SDMA este un derivat metilat al L-Argininei care este strict eliminat prin urină, astfel nivelul plasmatic de SDMA este puternic corelat cu funcția renală [11]. În 18 studii cu mai mult de 2,136 pacienți, concentrațiile sistemice de SDMA s-au corelat cu clearance-ul inulinei și cu creatinina serică. Există dovezi ale unei relații multivariate pozitive, semnificative între SDMA și infarct cardioembolic [12, 16]. Nu este cunoscut dacă această asociere dintre SDMA și boli cardiovasculare este rezultatul efectelor sale indirecte asupra sintezei de NO și/sau a relației sale cu funcția renală. Mai mult, există indicii că nivelul crescut de SDMA se corelează cu insuficiență renală, insuficiență hepatică și cu un risc cardiovascular crescut [6, 7, 12, 14-16].

Concluzii

Rezultatele prezentului studiu dovedesc acumularea SDMA în fluxul sanguin la pacienții cu ulcer venos de gambă, în comparație cu controlul. Autorii apreciază ca SDMA induce răspunsuri biologice distincte la pacienții cu ulcer venos de gambă. Datele noastre arată că SDMA nu este un metabolit inert și că ar putea contribui la fiziopatogeneza ulcerului venos de gambă.

Bibliografie/Bibliography

1. Weller C, Evans S. Venous leg ulcer management in general practice: Practice nurses and evidence based guidelines. *Australian family physician*. 2012 ;41(5): 331.
2. Dean S. Leg ulcers: causes and management. *Australian family physician*. 2006; 35(7): 480.
3. Collins L, Seraj S. Diagnosis and treatment of venous ulcers. *American family physician*. 2010; 81(8): 989.
4. Korpacka MK, Wicniewski J, Fleszar M et al, Metabolites of the Nitric Oxide (NO) Pathway Are Altered and Indicative of Reduced NO and Arginine Bioavailability in Patients with Cardiometabolic Diseases Complicated with Chronic Wounds of Lower Extremities: Targeted Metabolomics Approach (LC-MS/MS), *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019; 13, 5965721

thesis by blocking the uptake of L-arginine. *In vitro*, SDMA inhibits the production of NO in endothelial cells. In addition, plasma levels of SDMA are negatively associated with the L-arginine/ADMA ratio, an indicator of NO production in vivo [7]. SDMA increases ROS production in monocytes stimulated with N-formyl-Met-Leu-Phe (fMLP) by modulating calcium influx via store-operated calcium channels (SOC). SDMA induces increased endothelial ROS production, an effect associated with reduced Arg uptake and inhibition of NO production [9, 10].

SDMA is a methylated derivative of L-Arginine that is strictly excreted in the urine, thus the plasma level of SDMA is strongly correlated with renal function [11]. In 18 studies with more than 2,136 patients, systemic SDMA concentrations were correlated with inulin clearance and serum creatinine. There is evidence of a positive, significant multivariate relationship between SDMA and cardioembolic stroke [12, 16]. It is not known whether this association between SDMA and cardiovascular diseases is the result of its indirect effects on NO synthesis and/or its relationship with renal function. Moreover, there are indications that increased levels of SDMA correlate with renal impairment, liver failure, and increased cardio-vascular risk [6, 7, 12, 14-16].

Conclusions

The results of this study demonstrate the accumulation of SDMA in the blood flow in patients with venous leg ulcer, compared with the control group. The authors estimate that SDMA induces distinct biological responses in patients with venous leg ulcer. Our data show that SDMA is not an inert metabolite and could contribute to the pathophysiology of venous leg ulcer.

5. Dorantes LC, Ayala MC. Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review, *Abs. Int. J. Inflamm.*, 2019, 15.
6. Feliars D, Lee DY, Gorin Y et al. SDMA alters endothelial NO activity glomerular endothelial cells. *Cell Signal*, 2015; 27(1):1-5.
7. Chandrasekharan UM1, Wang Z1, Wu Y et al. Elevated levels of plasma SDMA and increased arginase activity as potential indicators of cardiovascular comorbidity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2018; 20(1):123.
8. Tain YL, Hsu CN, Toxic dimethylarginines: ADMA and SDMA. *Toxins (Basel)*. 2017; 9(3). pii: E92.
9. Tsikas, D. Does the inhibitory action of asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the endothelial nitric oxide synthase activity explain its importance in the cardiovascular system? The ADMA paradox. *J. Controversies Biomed. Res.* 2017; 3, 16–22.
10. Tsikas, D., Bollenbach, A., Hanff, E., Kayacelebi, A.A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA) and homoarginine (hArg): The ADMA, SDMA and hArg paradoxes. *Cardiovasc. Diabetol.* 2018; 17, 1.
11. Blanc, R.S.; Richard, S. Arginine Methylation: The Coming of Age. *Mol. Cell* 2017; 65, 8–24.
12. Schlesinger, S.; Sonntag, S.R.; Lieb, W.; Maas, R. Asymmetric and symmetric dimethylarginine as risk markers for total mortality and cardiovascular outcomes: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *PLoS ONE* 2016; 11
13. Emrich, I.E.; Zawada, A.M.; Martens-Lobenhoffer, J. et al Symmetric dimethylarginine (SDMA) outperforms asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other methylarginines as predictor of renal and cardiovascular outcome in non-dialysis chronic kidney disease. *Clin. Res. Cardiol.* 2018; 107, 201–213.
14. Zobel, E.H., von Scholten, B.J., Reinhard, H., Persson, F., Teerlink, T., Hansen, T.W., Parving, H.H., Jacobsen, P.K., Rossing, P. Symmetric and asymmetric dimethylarginine as risk markers of cardiovascular disease, all-cause mortality and deterioration in kidney function in persons with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Cardiovasc. Diabetol.* 2017; 16, 88.
15. Damaso EO, Damaso A, Esparragon FR et al, ADMA and SDMA in CKD: A clinical Approach, *Molecular Sciences*, 2019; 20, 3668.
16. Chandrasekharan JT, Salpeter SR, Boeger SB et al. SDMA as endogenous marker of renal function-a meta-analysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2006; 21(9): 2446–2451
17. Luo J, Chen A. NO: a newly discovered function on wound healing. *Acta Pharm. Sinica*, 2005; 26, 259-264.
18. Adler B, Friedman A. NO therapy for dermatologic disease. *Future SciOA*, 2015 *Toxins (Basel)*. 2017; 9(3): 92.

Conflict de interese
NEDECLARATE

Conflict of interest
NONE DECLARED

Adresa de corespondență: Mircea Tampa
Clinica Dermatologie, Spitalul Clinic de Boli infecțioase "Victor Babeș", București, România
Clinica Dermatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, România
tampa_mircea@yahoo.com

Correspondance address: Mircea Tampa
Department of Dermatology, 'Victor Babeș' Clinical Hospital for Infectious Diseases, Bucharest, Romania
Department of Dermatology, 'Carol Davila' University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania.
tampa_mircea@yahoo.com