



Gebrauchsanweisung

ADMA / Arginin ELISA


Enzymimmunoassay
für die quantitative Bestimmung von
Endogenem Asymmetrischen Dimethyl-Arginin (ADMA)
und Arginin (ARG)
in Serum und EDTA-Plasma


RUO

Nur für Forschungszwecke

REF EA215/96

 96










 2 – 8 °C

 DLD Gesellschaft für Diagnostika und medizinische Geräte mbH
Adlerhorst 15 • 22459 Hamburg • Tel 040-555 87 10 • Fax 040-555 87 111
Internet: <http://www.dld-diagnostika.de> • E-Mail: contact@dld-diagnostika.de

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Testprinzip.....	5
2	Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen.....	5
3	Änderungen	6
4	Lagerung und Haltbarkeit.....	6
5	Inhalt des Kits.....	6
6	Probengewinnung.....	8
7	Vorbereitung der Reagenzien	9
8	Testdurchführung ELISA	10
9	Auswertung und Beurteilung	13
10	Testcharakteristika.....	15
11	Literatur.....	17
	Pipettierschema - Probenvorbereitung.....	19
	Pipettierschema - ELISA	20

Verwendete Symbole

	Für Forschungszwecke		
	Inhalt		Verwendbar bis
	Chargenbezeichnung		Temperaturbegrenzung
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Bestellnummer		Gebrauchsanweisung beachten

Die Symbole der Komponenten des Kits sind im Kapitel 4 *Inhalt des Kits* beschrieben

1 Einleitung und Testprinzip

Der ADMA/Arginin ELISA Kit enthält Reagenzien für die quantitative Bestimmung von derivatisiertem ADMA (asymmetrisches Dimethyl-Arginin) und Arginin in Serum oder EDTA-Plasma. Die Derivatisierung erfolgt während der Probenvorbereitung. Dabei wird ADMA durch das Acylierungsreagenz quantitativ in N-Acyl-ADMA und Arginin quantitativ in N-Acyl-Arginin umgewandelt.

Der ADMA/Arginin Elisa ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay. An die Festphase gebundenes und freies, in Lösung befindliches Antigen, konkurrieren um eine definierte Anzahl von Antikörper-Bindungsstellen. Wenn sich das System im Gleichgewicht befindet, wird der nicht-gebundene Antigen-Antikörper-Komplex in einem Waschschritt entfernt und der entsprechend gebundene Komplex mittels eines Anti-Kaninchen-IgG-Peroxidase-Konjugats nachgewiesen und über den Umsatz von Tetramethylbenzidin (TMB) bestimmt. Die TMB/POD-Reaktion wird gestoppt und bei 450 nm gemessen. Die Konzentration des an die Festphase gebundenen Antigen-Antikörper-Komplexes ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe.

2 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für Forschungszwecke. Nur für den Gebrauch durch Fachpersonal.
- Vor der Testdurchführung sollte die Gebrauchsanweisung vollständig gelesen und deren Inhalt verstanden worden sein. Die gültige Version aus dem Kit verwenden.
- Alle Reagenzien dieses Kits, die tierischen Ursprungs sind, stammen von gesunden Tieren. Die Reagenzien sollten trotzdem wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Einzelne Komponenten verschiedener Chargen und Kits sollten nicht ausgetauscht werden. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten.
- Beim Handhaben der Reagenzien, Kontrollen und Patientenproben sind die gängigen Laborsicherheitsrichtlinien und die Gute Laborpraxis zu beachten.
- Während der Testdurchführung Kittel, Einmal-Handschuhe und Schutzbrille tragen.
- Ein Teil der Komponenten dieses Kits enthalten Gefahrstoffe und sind kennzeichnungspflichtig. Diese Komponenten tragen das entsprechende Gefahrensymbol auf ihrem Etikett. Weitere Informationen befinden sich in 4. *Inhalt des Kits* und auf den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern.

- Vermeiden Sie alle Handlungen, die zu einem Verschlucken, Einatmen oder Injizieren der Reagenzien führen könnten. Niemals mit dem Mund pipettieren.
- Kontakt mit einzelnen Reagenzien vermeiden, diese können Reizungen und Verätzungen verursachen.
- Abfälle sollten nach den staatlichen und örtlichen Umweltschutzregularien entsorgt werden.
- Zerbrochenes Glas kann zu Verletzungen führen. Vorsicht bei Glasgefäßen.

3 Änderungen

Version _8: Ergänzungen/Änderungen sind grau hervorgehoben.

Version _7: Ergänzungen/Änderungen sind grau hervorgehoben.





4 Lagerung und Haltbarkeit

Der Kit wird bei Umgebungstemperatur geliefert und ist bei Lagerung zwischen 2 - 8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nach Anbruch ist der Kit bis zum Verfallsdatum haltbar. Die Haltbarkeit der gebrauchsfertigen Reagenzien ist auf dem jeweiligen Flaschenetikett angegeben. Die Haltbarkeit und die Lagerung der vorbereiteten Reagenzien werden unter 6. geregelt.

Alle Reagenzien müssen vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur gebracht und sofort nach Gebrauch wieder kühl gestellt werden.

5 Inhalt des Kits

MT-Streifen	STRIPS-ADMA	12 Stück
Mikrotiterstreifen mit je 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar, blau markiert, beschichtet mit ADMA		
MT-Streifen	STRIPS-ARG	12 Stück
Mikrotiterstreifen mit je 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar, gelb markiert, beschichtet mit Arginin		
Standards 1-6	CAL 1 – 6	6 Fläschchen
Je 4 ml, gebrauchsfertig		

Kontrolle 1 & 2 Je 4 ml, gebrauchsfertig Bereich: Siehe Q.C.-Zertifikat im Kit	CON 1 & 2		2 Fläschchen
Acylierungspuffer 3,5 ml, gebrauchsfertig Blau eingefärbt	ACYL-BUFF		1 Fläschchen Achtung
Acylierungsreagenz Lyophilisiert (s. 7.3)	ACYL-REAG		3 Fläschchen
Antiserum ADMA 7 ml, gebrauchsfertig, blau eingefärbt Kaninchen-anti-N-Acyl-ADMA	AS-ADMA		1 Fläschchen Achtung
Antiserum Arginin 7 ml, gebrauchsfertig, gelb eingefärbt Kaninchen-anti-N-Acyl-Arginin	AS-ARG		1 Fläschchen Achtung
Enzymkonjugat 13 ml, gebrauchsfertig Anti-Kaninchen-IgG-Peroxidase	CONJ		2 Fläschchen Achtung
Waschpuffer 20 ml, 50x Konzentrat (s. 7.2)	WASH		2 Fläschchen
Substrat 13 ml TMB-Lösung, gebrauchsfertig	SUB		2 Fläschchen
Stopplösung 13 ml, gebrauchsfertig, enthält 0,3 M Schwefelsäure	STOP		2 Fläschchen
Reaktionsplatte für die Acylierung	ACYL-PLATE		1 Stück
Ausgleichsreagenz Lyophilisiert (s. 7.1)	EQUA-REAG		1 Fläschchen

Solvent**SOLVENT**

1 Fläschchen

10 ml, gebrauchsfertig, enthält DMSO,
(bitte beachten: Solvent greift Plastik an; Solvent reagiert
nicht mit normalen Pipettenspitzen und Glasgefäßen)



Achtung



Gefahr

Haftklebefolie**FOIL**

4 Stück

Gebrauchsfertig

Zusätzliches Material (nicht im Kit enthalten):

- Pipetten für 10, 20, 25, 50, 100 und 200 µl
- Mehrkanalpipette oder Waschgerät
- Photometer für die Auswertung von Mikrotiterplatten (450 nm)
- Horizontal-Schüttler
- Vortex-Mischer
- Rollenmischer
- Multipette
- Destilliertes Wasser
- Papiertücher, Pipettenspitzen, Stoppuhr

6 Probengewinnung

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden.

Für den Test kann EDTA-Plasma und Serum eingesetzt werden.

Die Proben können bis zu 6 Stunden bei 2 - 8 °C gelagert werden. Proben, die nicht sofort in dem Test eingesetzt werden, können bei -20 °C mindestens 18 Monate gelagert werden.

7 Vorbereitung der Reagenzien

Die Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.

7.1 Ausgleichsreagenz

Inhalt des Fläschchens **EQUA-REAG** mit 21 ml destilliertem Wasser lösen, kurz vortexen und mindestens 20 Minuten auf den Rollmischer oder ähnlichem Schüttler mischen, übermäßige Schaumbildung vermeiden.

Das gelöste Ausgleichsreagenz muss für den späteren Gebrauch bei -20 °C eingefroren werden und bleibt so bis zum Verfallsdatum verwendbar.

7.2 Waschpuffer

Inhalt des Fläschchens **WASH** mit destilliertem Wasser auf ein Endvolumen von 1000 ml auffüllen, kurz mischen.

Der verdünnte Waschpuffer muss für den späteren Gebrauch bei 2 - 8 °C gelagert werden und bleibt so für 4 Wochen verwendbar.

Wird der Kit in mehreren Ansätzen verwendet, sollte nur die dafür benötigte Menge Waschpuffer angesetzt werden.

7.3 Acylierungs-Reagenz

Benötigte Fläschchen Acylierungs-Reagenz **ACYL-REAG** dem Folienbeutel entnehmen, die übrigen Fläschchen in Folienbeutel zusammen mit dem Trockenmittel belassen und sorgfältig verschließen. Zur Rekonstitution des lyophilisierten Acylierungs-Reagenzes den Inhalt des Fläschchens mit 3 ml Solvent **SOLVENT** lösen und mindestens 10 Minuten auf den Rollmischer oder ähnlichem Schüttler mischen. Das Acylierungs-Reagenz sollte unmittelbar vor Testbeginn frisch angesetzt werden und ist dann mind. 3 Stunden stabil. Durch die 2. und 3. Flasche im Kit ist der ELISA in zwei oder drei Ansätzen teilbar. Wenn der Kit in einem Ansatz verbraucht wird, den aufgelösten Inhalt von zwei Fläschchen poolen. Nach Gebrauch ist das Restreagenz zu verwerfen.

Alle anderen Reagenzien sind gebrauchsfertig.

8 Testdurchführung ELISA

Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.

Es wird empfohlen, Doppelbestimmungen durchzuführen.

Die für die Acylierung verwendeten Vertiefungen der Reaktionsplatte **ACYL-PLATE** markieren (Edding) und nur einmal verwenden!

8.1 Probenvorbereitung (Acylierung)

1. **20 µl Standard 1 – 6** **CAL 1-6**, **Kontrolle 1 & 2** **CON 1&2**, **EDTA-Plasma und Serum** in die entsprechenden Vertiefungen der Reaktionsplatte **ACYL-PLATE** pipettieren.
2. **20 µl Acylierungspuffer** **ACYL-BUFF** in jede Vertiefung pipettieren.
3. **200 µl gelöstes Ausgleichsreagenz** **EQUA-REAG** (s.7.1) in jede Vertiefung pipettieren.
Platte 10 Sekunden auf einem Horizontalschüttler **bei mittlerer Schüttelfrequenz** schütteln.
4. Bitte beachten: Acylierungsreagenz reagiert mit vielen Plastikmaterialien, z.B. Plastikschälchen. Acylierungsreagenz reagiert nicht mit normalen Pipettenspitzen und Glasgefäßen.
Bitte Multipetten oder Ähnliches verwenden, das Acylierungsreagenz direkt aus dem Fläschchen aufziehen und pipettieren.
50 µl gelöstes Acylierungsreagenz **ACYL-REAG** (s. 7.3) in jede Vertiefung pipettieren und **sofort** mit dem nächsten Punkt fortfahren. Farbe wechselt zu violett.
5. 20 Minuten bei Raumtemperatur **(20 - 25 °C)** auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.

Je 25 µl der so vorbereiteten Proben werden in den ADMA-ELISA und je 10 µl der so vorbereiteten Proben werden in den Arginin-ELISA eingesetzt.

8.2 Durchführung ADMA ELISA

1. **25 µl acylierte Standards, Kontrollen und Proben** in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterstreifen **STRIPS-ADMA** (blau markiert) pipettieren. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen im Folienbeutel zusammen mit dem Trockenmittel belassen und sorgfältig verschließen.
2. **50 µl ADMA Antiserum AS-ADMA** in jede Vertiefung pipettieren.
3. Platte mit Haftklebefolie **FOIL** abkleben und 90 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
4. Vertiefungen entleeren, mit ca. **300 µl verdünntem Waschpuffer** (s. 7.2) füllen und wieder entleeren. Anschließend die Mikrotiterstreifen umgedreht auf eine saugfähige Unterlage (**Papiertuch**) legen und kurz ausklopfen, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen. Diesen Vorgang insgesamt 4 mal durchführen. Alternativ kann auch ein Waschgerät verwendet werden.
5. **100 µl Enzymkonjugat CONJ** in jede Vertiefung pipettieren.
6. 30 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
7. Waschen: Wie unter Punkt 4. beschrieben.
8. **100 µl Substrat SUB** in jede Vertiefung pipettieren.
9. 25 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
10. **100 µl Stopplösung STOP** in jede Vertiefung pipettieren und mindestens 10 Sekunden auf einem Horizontalschüttler mischen.
11. Platte im Photometer bei 450 nm (Referenzwellenlänge zwischen 570 nm und 650 nm) innerhalb von 15 Minuten messen.

8.3 Durchführung Arginin ELISA

1. **10 µl acylierte Standards, Kontrollen und Proben** in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterstreifen **STRIP-ARG** (gelb markiert) pipettieren.
Nicht benötigte Mikrotiterstreifen im Folienbeutel zusammen mit dem Trockenmittel belassen und sorgfältig verschließen.
2. **50 µl Arginin Antiserum** **AS-ARG** in jede Vertiefung pipettieren.
3. Platte mit **Haftklebefolie** **FOIL** abkleben und 90 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
4. Vertiefungen entleeren, mit ca. **300 µl verdünntem Waschpuffer** (s. 7.2) füllen und wieder entleeren. Anschließend die Mikrotiterstreifen umgedreht auf eine saugfähige Unterlage (**Papiertuch**) legen und kurz ausklopfen, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen. Diesen Vorgang insgesamt 4 mal durchführen. Alternativ kann auch ein Waschgerät verwendet werden.
5. **100 µl Enzymkonjugat** **CONJ** in jede Vertiefung pipettieren.
6. 30 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
7. Waschen: Wie unter Punkt 4. beschrieben.
8. **100 µl Substrat** **SUB** in jede Vertiefung pipettieren.
9. 25 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
10. **100 µl Stopplösung** **STOP** in jede Vertiefung pipettieren, **und mindestens 10 Sekunden auf einem Horizontalschüttler mischen.**
11. Platte im Photometer bei 450 nm (Referenzwellenlänge zwischen 570 nm und 650 nm) innerhalb von 15 Minuten messen.

9 Auswertung und Beurteilung

Standard	1	2	3	4	5	6
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0	0,2	0,45	0,7	1	3
Arginin ($\mu\text{mol/l}$)	5	15	35	70	120	300

Umrechnung:

ADMA: $1 \mu\text{mol/l} = 202 \text{ ng/ml}$

Arginin: $1 \mu\text{mol/l} = 174 \text{ ng/ml}$

Die ODs (optische Dichten) der Standards (linear) werden gegen die entsprechenden Konzentrationen der Standards (logarithmisch) aufgetragen.

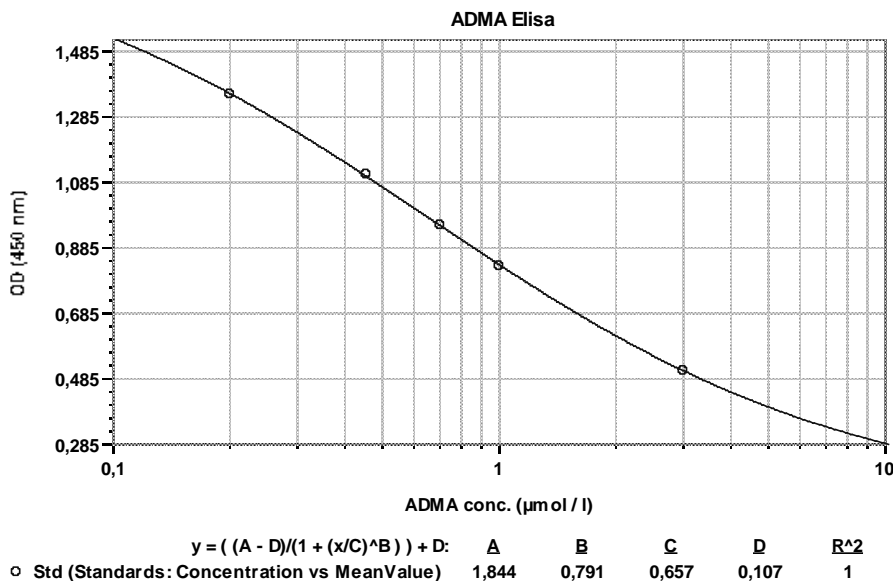
Bei Verwendung eines Computerprogramms wird die 4-Parameter-Analyse empfohlen (Alternativ: Cubic-Spline oder Logit-Log).

Die Konzentrationen der Kontrollen und Proben können direkt aus der Standardkurve in $\mu\text{mol/l}$ abgelesen werden.

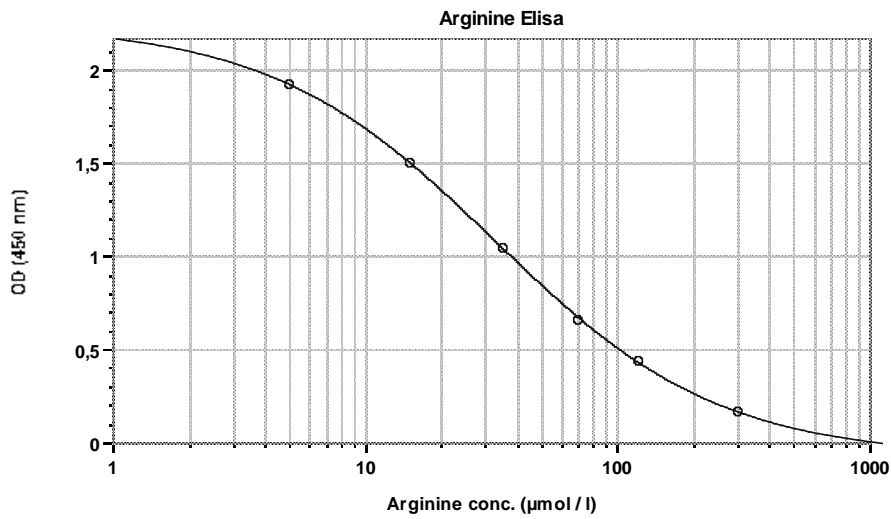
Die Serumwerte für Arginin können um ca. 50% höher sein als die entsprechenden Werte für EDTA-Plasma beim gleichen Spender.

Die Abbildungen zeigen Beispiele einer Standardkurve (nicht für die Berechnung der Ergebnisse verwenden):

ADMA ELISA



Arginin ELISA



$y = ((A - D)/(1 + (x/C)^B)) + D$: **A** **B** **C** **D** **R²**
○ Std (Standards: Concentration vs MeanValue) 2,248 0,975 32,2 -0,071 1

Qualitätskontrolle: Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn die Kitkontrollen innerhalb der Bereiche entsprechend des Qualitätskontrollzertifikates liegen. Ansonsten sollte der Test wiederholt werden.

10 Testcharakteristika

10.1 Sensitivität

	Untere Nachweisgrenze	Berechnung
ADMA	0,03 $\mu\text{mol} / \text{l}$	$\text{OD}_{\text{Cal1}} - 3 \times \text{SD}$
Arginin	6 $\mu\text{mol} / \text{l}$	$\text{OD}_{\text{Cal1}} - 3 \times \text{SD}$

10.2 Spezifität (Kreuzreaktivitäten)

ADMA

Substanz	Kreuzreaktivität (%)
ADMA	100
SDMA	0,05
Monomethylarginin (NMMA)	1,93
Homoarginin	< 0,01
Arginin	0,03

Arginin

Substanz	Kreuzreaktivität (%)
Arginin	100
ADMA	< 0,37
Homoarginin	2,92
SDMA	0,88

10.3 Wiederfindung nach Spiken

ADMA

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Mittelwert (%)	Bereich (%)
EDTA-Plasma	0,43 – 1,55	99	90 - 107
Serum	0,54 – 1,72	92	87 - 102

Arginin

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Mittelwert (%)	Bereich (%)
EDTA-Plasma	48 – 163	97	93 - 100
Serum	82 – 211	100	96 - 103

10.4 Linearität

ADMA

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Höchste Verd.	Mittelwert (%)	Bereich (%)
EDTA-Plasma	0,23 – 1,53	1 : 6 mit Wasser	99	92 - 105

Arginin

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Höchste Verd.	Mittelwert (%)	Bereich (%)
EDTA-Plasma	28 – 193	1 : 6 mit Wasser	102	94 - 106

10.5 Reproduzierbarkeit**ADMA**

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Intra-Assay-Vk
EDTA-Plasma	0,58 – 1,04	4,9 – 5,4 %

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Inter-Assay-Vk
EDTA-Plasma	0,57 – 1,34	4,3 – 9,6 %

Arginin

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Intra-Assay-Vk
EDTA-Plasma	56 – 125	3,6 – 2,3 %

Matrix	Bereich ($\mu\text{mol} / \text{l}$)	Inter-Assay-Vk
EDTA-Plasma	53 – 170	3,2 – 6,3 %

10.6 Methodenvergleich**ADMA**

Matrix	Vergleichsmethode	Korrelation
Serum + EDTA-Plasma	LC/MS	$Y = 0,99 \times \text{LC/MS} + 0,02$; $R = 0,983$; $N = 32$

Arginin

Matrix	Vergleichsmethode	Korrelation
Serum + EDTA Plasma	LC/MS	$Y = 0,95 \times \text{LC/MS} - 0,68$; $R = 0,991$; $N = 32$

10.7 Kalibrierung

Die Kalibrierung erfolgt durch Einwaage der Reinsubstanz.

10.8 Grenzen der Methode

Die Ergebnisse sind nur für Forschungszwecke geeignet.

Proben oberhalb des höchsten Standards müssen mit Wasser (s. 10.4) verdünnt und erneut bestimmt werden. Die Werte von verdünnten Proben müssen mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

10.9 Interferenzen

Hämolytische, lipämische und ikterische Proben sollten nicht eingesetzt werden.

11 Literatur

11.1 Literatur unter Einsatz des ADMA-ELISA der DLD Diagnostika

Schulze F, Wesemann R, Schwedhelm E, Sydow K, Albsmeier J, Cooke JP, Böger RH.

Determination of ADMA using a novel ELISA assay.

Clin. Chem. Lab. Med. 2004; 42: 1377-1383

Krempl TK, Kähler J, Maas R, Silberhorn L, Meinertz T, Böger RH.

Elevation of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in patients with unstable angina and recurrent Plasmaiovascular events.

Eur. Heart J. 2005; 26: 1846-1851

Schulze F, Maas R, Freese R, Schwedhelm E, Silberhorn L, Böger RH.

Determination of a reference value for N,N-dimethyl-L-arginine in 500 subjects.

Eur. J. Clin. Invest. 2005; 35 : 622-626

Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, Lackner KJ, Rupprecht HJ, Espinola-Klein C, Jachmann N, Post F, Peetz D, Bickel C, Cambien F, Tiret L, Münzel T.

Asymmetric dimethylarginine and the risk of Plasmaiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study.

Circ. Res. 2005; 97: e53-59

O'Dwyer MJ, Dempsey F, Crowley V, Kelleher D, McManus R, Ryan T.

Septic shock correlates with ADMA levels which may be influenced by a polymorphism in DDAH II: a prospective observational study.

Crit. Care 2006; 10: (5): R139

Antoniades C, Tousoulis D, Marinou K, Vasiliadou C, Tentolouris C, Bouras G, Pitsavos C, Stefanidis C.

Asymmetrical dimethylarginine regulates endothelial function in methionine-induced but not in chronic homocystinemia in humans: effect of oxidative stress and proinflammatory cytokines

Am. J. Clin. Nutr. 2006; 84: 781-788

Wang TZ., Chen WJ., Cheng WC., Lin JW., Chen MF., Lee YT.

Relation of improvement in endothelium-dependent flowmediated vasodilation after Rosiglitazone to changes in asymmetric dimethylarginine, endothelin-1, and C-reactive protein in nondiabetic patients with the metabolic syndrome

Am. J. Plasmaiol. 2006; 9: 1057-1062

Wanby P., Nilsson I., Brudin L., Nyhammar I., Gustafsson I., Carlsson M.

Increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with carotid stenosis: no evidence for the role of the common FABBP2 A54T gene polymorphism

Acta Neurol. Scand. 2007; 115: 90-96

Konishi H, Sydow K, Cooke JP.

Dimethylarginine dimethylaminohydrolase promotes endothelial repair after vascular injury

J. Am. Coll. Plasmaiol. 2007; 49: 1099-1105

Iribarren C, Husson G, Sydow K, Wang BY, Sidney S, Cooke JP.

Asymmetric dimethyl-arginine and coronary artery calcification in young adults entering middle age: the PLASMAIA Study

Eur. J. Plasmaiovasc. Prev. Rehabil. 2007; 14:222-229

Melikian N, Wheatcroft SB, Ogah OS, Murphy C, Chowienczyk PJ, Wierzbicki AS, Sanders TA, Jiang B, Duncan ER, Shah AM, Kearney MT.

Asymmetric dimethylarginine and reduced nitric oxide bioavailability in young Black African men
Hypertension 2007; 49: 873-877

Horowitz JD, Heresztyn T.

An overview of plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in health and disease and in clinical studies: Methodological considerations.

J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2007; epub ahead of print

Korish AA, Arafah MM.

Catechin combined with vitamins C and E ameliorates insulin resistance (IR) and atherosclerotic changes in aged rats with chronic renal failure (CRF)

Arch. Gerontol. Geriatr. 2007; in press

Charitidou C, Farmakiotis D, Zournatzi V, Pidonia I, Pegiou T, Karamanis N, Hatzistilianou M, Katsikis I, Panidis D.

The administration of estrogens, combined with anti-androgens, has beneficial effects on the hormonal features and asymmetric dimethyl-arginine levels, in women with the polycystic ovary syndrome

Atherosclerosis 2007; in press

11.2 Allgemeine Literatur

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S.

Accumulation of an endogenous inhibitor of NO synthesis in chronic renal failure

Lancet 1992; 339: 572 - 575

Stühlinger M, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS.

Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor

J. Am. Med. Assoc. 2002; 287: 1420-1426

Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich JC, Böger RH.

Asymmetric dimethylarginine (ADMA): An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase predicts mortality in end-stage renal disease (ESRD)

Lancet 2001; 358: 2113-2117

Nijveldt RJ, Teerlink T, Van der Hoven B, Siroen MP, Kuik DJ, Rauwerda JA, van Leeuwen PA.

Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality

Clin. Nutr. 2003; 22: 23-30

Savidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frolich JC, Vallance P, Nicolaides KH.

Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia

Lancet 2003; 361: 1511-1517

Böger RH.

The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel Plasmaiovascular risk factor

Plasmaiovasc. Res. 2003; 59: 824-833

Lu TM, Ding YA, Lin SJ, Lee WS, Tai HC.

Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse Plasmaiovascular events after percutaneous coronary intervention.

Eur Heart J. 2003; 24: 1912-1919

Pipettierschema - Probenvorbereitung

Für ADMA und Arginin gemeinsam in einer ACYL-PLATE

		Standards	Kontrollen	Plasma	Serum
ACYL-PLATE:					
CAL 1 - 6	µl	20			
CON 1 & 2	µl		20		
EDTA-Plasma	µl			20	
Serum					20
ACYL-BUFF	µl	20	20	20	20
EQUA-REAG	µl	200	200	200	200

Platte 10 Sekunden schütteln

ACYL-REAG	µl	50	50	50	50
-----------	----	----	----	----	----

Sofort 20 Minuten bei Raumtemperatur schütteln

25 µl Überstand für ADMA ELISA einsetzen

10 µl Überstand für Arginin ELISA einsetzen

Pipettierschema - ELISA

Für ADMA und Arginin in getrennten Mikrotiterplatten:

	ADMA (blau) STRIPS-ADMA			Arginin (gelb) STRIPS-ARG		
	Acyl. Stand.	Acyl. Kontr.	Acyl. Proben	Acyl. Stand.	Acyl. Kontr.	Acyl. Proben
Transfer von ACYL-PLATE in STRIPS	25	25	25	10	10	10
AS-ADMA (blau) µl	50	50	50	-	-	-
AS-ARG (gelb) µl	-	-	-	50	50	50

STRIPS mit FOIL abkleben

90 Minuten bei Raumtemperatur schütteln
4 x Waschen (ca. 300 µl WASH pro Well)

CONJ	µl	100	100	100	100	100	100
------	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

30 Minuten bei Raumtemperatur schütteln
4 x Waschen (ca. 300 µl WASH pro Well)

SUB	µl	100	100	100	100	100	100
-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

25 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur schütteln

STOP	µl	100	100	100	100	100	100
------	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Platte mindestens 10 Sekunden schütteln
Messung der Extinktion bei 450 nm (Ref. 570 - 650 nm)