

Aus dem Leibniz-Institut für Arterioskleroseforschung  
an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
Department für Zellbiologie und Ultrastrukturforschung

– Direktor: Univ.–Prof. Dr. Horst Robenek –

# **ADMA in der Pathogenese der Atherosklerose und Atherosklerose-assoziiierter Krankheiten**

---

**Inaugural-Dissertation**

zur

Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Vorgelegt von

Sebastian Oeller

– Schwanewede –

2013

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen  
Wilhelms-Universität Münster

Dekan:

Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. W. Schmitz

Erster Berichterstatter:

Univ.-Prof. Dr. H. Robenek

Zweiter Berichterstatter:

Univ.-Prof. Dr. P. Bruckner

Tag der mündlichen Prüfung:

19.06.2013

Aus dem Leibniz-Institut für Arterioskleroseforschung an der Westfälischen  
Wilhelms-Universität Münster  
Department für Zellbiologie und Ultrastrukturforschung  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. H. Robenek

## **Zusammenfassung**

### ADMA in der Pathogenese der Atherosklerose und Atherosklerose-assoziiierter Krankheiten

Sebastian Oeller

Eine adäquate Regulation der Organperfusion mittels Gefäßweitstellung und -verengung durch die L-Arginin-abhängige Stickstoffmonoxid(NO)-Bildung stellt eine der wichtigsten Funktionen unseres Gefäßsystems dar. Es ist heute bekannt, dass die NO-Bildung bei nahezu jeder Art von Herz-Kreislauf-Erkrankungen gestört ist, eine Ursache für Bluthochdruck, Thrombosen und Atherosklerose. Zu den Ursachen dieser durch NO-Mangel ausgelösten Erkrankungen gehört die Hemmung der NO-Bildung durch asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA).

In dieser Arbeit wurde die Rolle von ADMA bei der Pathogenese der Atherosklerose und Atherosklerose-assoziiierter Krankheiten anhand der einschlägigen Literatur recherchiert und analysiert.

Zusammenfassend konnten erhöhte ADMA-Spiegel mit dem Vorliegen von Atherosklerose, kardialen Erkrankungen, Diabetes mellitus, chronische Nierenerkrankungen, Präeklampsie, Hyperhomocysteinämie und Leberversagen in Zusammenhang gebracht werden. Neben dem antioxidativ wirkenden L-Arginin spielen reaktive Sauerstoffspezies eine zentrale Rolle im NO-/ADMA-Stoffwechsel und beeinflussen mittels Oxidation und Reduktion Atherosklerose-assoziierte Krankheiten.

Ob ADMA Ursache oder Folge dieser Krankheiten darstellt, konnte bis heute noch nicht abschließend geklärt werden. Eine Rolle von ADMA als Risikofaktor der Atherogenese gilt jedoch als sehr wahrscheinlich. Es bleibt abzuwarten, ob weitere Forschungen die Rolle von ADMA in der Pathogenese der Atherosklerose und Atherosklerose-assoziiierter Krankheiten abschließend klären können.

Tag der mündlichen Prüfung: 19.06.2013

## **Erklärung**

Ich gebe hiermit die Erklärung ab, dass ich die Doktorarbeit mit dem Titel:

**„ADMA in der Pathogenese der Atherosklerose und  
Atherosklerose-assoziiierter Krankheiten“**

in dem Leibniz-Institut für Arterioskleroseforschung unter Anleitung von Herrn Univ.-Prof. Dr. H. Robenek

1. selbstständig angefertigt,
2. nur unter Benutzung der im Literaturverzeichnis angegebenen Arbeiten angefertigt und sonst kein gedrucktes oder ungedrucktes Material verwendet,
3. keine unerlaubte Hilfe in Anspruch genommen,
4. sie weder in der gegenwärtigen noch in einer anderen Fassung einer in- oder ausländischen Fakultät als Dissertation, Semesterarbeit, Prüfungsarbeit, oder zur Erlangung eines akademischen Grades, vorgelegt habe.

Sebastian Oeller  
Neue Straße 30  
28790 Schwanewede

Schwanewede, den 23.06.2013

Sebastian Oeller

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>9</b>
1.1	Die Arterie	9
1.1.1	Aufbau und Funktion	9
1.1.2	Zellen der Arterienwand	11
1.1.2.1	Endothelzellen	11
1.1.2.2	Glatte Muskelzellen	12
1.2	Atherosklerose	13
1.2.1	Risikofaktoren	13
1.2.2	Pathogenese	15
1.2.2.1	Frühe Läsionen	16
1.2.2.1.1	Erste Läsionen bis hin zum Fettstreifen	16
1.2.2.1.2	Intermediäre Läsionen	17
1.2.2.2	Fortgeschrittene Läsionen	17
1.2.2.2.1	Das Atherom	17
1.2.2.2.2	Das Fibroatherom	18
1.2.2.3	Die komplizierte Läsion	18
1.3.	Ziele der Arbeit	20
<b>2</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>20</b>
2.1	Stickstoffmonoxid	20
2.1.1	Synthese und Stoffwechsel	20
2.1.2	Wirkung	22
2.1.3	Stickstoffmonoxid-Mangel	24
2.2	L-Arginin	26
2.2.1	Synthese und Stoffwechsel	26
2.2.2	Pharmakokinetik	26
2.2.3	Wirkmechanismus	27
2.2.4	Wirkung auf die Atherogenese	27
2.3.	ADMA	29
2.3.1	Synthese	30
2.3.2	ADMA-Stoffwechsel	31
2.3.2.1	DDAH	31
2.3.2.1.1	Einteilung der DDAH	31
2.3.2.1.2	Lokalisation der DDAH-Isoformen	31
2.3.2.1.3	Regulation der DDAH-Aktivität	32
2.3.3	ADMA-Messung	34

2.3.4	Die Wirkung von Dimethylargininen bezogen auf Atherosklerose und Atherosklerose-assoziierte Krankheitsbilder.....	34
2.3.4.1	Atherosklerose .....	34
2.3.4.2	Hypercholesterinämie.....	37
2.3.4.3	Kardiale (Dys-)Funktion.....	38
2.3.4.4	Renale Dysfunktion.....	39
2.3.4.5	Hyperhomocysteinämie.....	41
2.3.4.6	Diabetes mellitus.....	43
2.3.4.7	Hepatische Dysfunktion .....	45
2.3.4.8	Präeklampsie .....	47
2.3.4.9	ADMA bei Multiorganversagen in der Intensivmedizin	49
3	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen .....	50
4	Literaturverzeichnis .....	53
5	Danksagung .....	76
6	Lebenslauf.....	77

## Abkürzungen

4124W	S2-Amino-4/3-methylguanidino-Buttersäure
ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
Adventitia	Tunica adventitia
BH <sub>4</sub>	Tetrahydrobiopterin
CAT	Cationic amino acid transporter
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
CKD	Chronic kidney disease
DDAH	Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase
EDRF	Endothelium-derived relaxing factor
eNOS	Endotheliale NOS
HDL	High Density Lipoprotein
hnRNP	Heterogenous nuclear ribonuclear proteins
IL	Interleukin
iNOS	Induzierbare NOS
Intima	Tunica intima
KHK	Koronare Herzkrankheit
NO	Stickstoffmonoxid
LDL	Low Density Lipoprotein
LPS	Lipopolysaccharide
L-NMMA	N <sub>G</sub> -N <sub>G</sub> -Monomethylarginin
Media	Tunica media
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
nNOS	Neuronale NOS
NOS	NO-Synthase
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Hyperoxidanion
ODC	Ornithin-Decarboxylase
Ox-LDL	Oxidiertes / modifiziertes LDL
PRMT	Protein N-Arginin Methyltransferase
ROS	Reactive oxygen species
SDMA	Symmetrisches Dimethylarginin
SERCA	Sarko-endoplasmatische Calcium-ATPase
TNF-α	Tumornekrosefaktor α



# 1 Einleitung

## 1.1 Die Arterie

### 1.1.1 Aufbau und Funktion

Das arterielle System versorgt alle Zellen des menschlichen Körpers kontinuierlich mit Nährstoffen und Sauerstoff. Es können grob drei Typen arterieller Gefäße differenziert werden (Junqueira und Carneiro 2005).

#### 1. Arterien vom elastischen Typ:

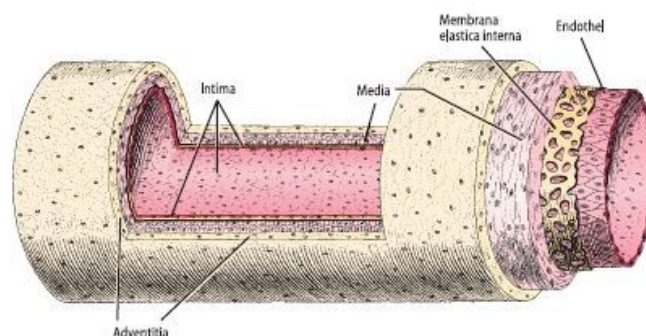
- Große, herznahe Gefäße, wie z. B. die Aorta und ihre Hauptäste
- Gekennzeichnet durch einen hohen Anteil von Elastin in der Tunica media
- Sorgen durch „Windkessel-Funktion“ für einen kontinuierlichen Blutfluss auch während der Diastole

#### 2. Arterien vom muskulären Typ:

- Große, mittlere und kleine organversorgende Arterien
- Stark ausgeprägte Tunica media
- Lenken die Organperfusion durch Lumenengstellung bzw. -weitstellung

#### 3. Arteriolen:

- Verbindung zwischen Arterien und Kapillarbett



**Abbildung 1: Schematischer Aufbau einer mittelgroßen muskulären Arterie. Der typische dreischichtige Aufbau zeigt sich in Intima, Media, und Adventitia. Außerdem ist die Membrana elastica interna zu sehen, welche Intima und Media voneinander abgrenzt (Junqueira und Carneiro 2005).**

Alle Arterien sind durch eine gemeinsame, dreischichtige Grundordnung im Aufbau gekennzeichnet. Die Tunica intima (kurz: Intima), welche das Gefäßlumen auskleidet, besteht aus Endothel. Dieses stellt sich als ein geschlossener, einschichtiger Zellverband dar, dessen Zellen parallel zur Flussrichtung des Blutes ausgerichtet sind. Neben der Regulation des Stoff- und Gasaustausches kann das Endothel bei Entzündungen Leukozytenrezeptoren ausbilden, welche den Abwehrzellen ein Eindringen ins umliegende Gewebe ermöglichen. Des Weiteren kann die Intima vasoaktive Substanzen sezernieren und trägt so zur lokalen Kreislaufregulation bei. Intakt wirkt die Intima hemmend auf die Blutgerinnung ein, während bei Endothelverletzungen eine stark thrombogene Wirkung von ihr ausgeht. Zusammenfassend fungiert die Intima als antithrombotische Auskleidung des Gefäßes, als Permeabilitätsbarriere, welche den Substanz Austausch an der Arterienwand reguliert, als Syntheseort von Zytokinen, Wachstumsfaktoren, vasoaktiven Stoffen und Matrixmolekülen und als Ort der Modifikation von Lipoproteinen (Ross 1993).

Die Tunica media (kurz: Media) kann aufgrund ihres hohen Anteils an glatten Muskelzellen, elastischen Fasern und Kollagen dem Blutdruck standhalten und mittels Muskelkontraktion zu einer Verengung des Gefäßlumens beisteuern (Schiebler und Korf 2007). Die wesentliche Aufgabe der Media besteht in der Umsetzung der Vasomotorik, welche den Blutfluss durch Vasokonstriktion und -dilatation beeinflusst. Begrenzt wird die Media einerseits luminal durch die Membrana elastica interna und abluminal durch die Membrana elastica externa.

Nach außen abschließend verankert das dichte Kollagennetz der Tunica adventitia (kurz: Adventitia) das Gefäß im umliegenden Gewebe. Kleine Blut- und Lymphgefäße durchziehen die Adventitia und sichern so die Versorgung abluminaler Gefäßschichten (Junqueira und Carneiro 2005).

## **1.1.2 Zellen der Arterienwand**

### **1.1.2.1 Endothelzellen**

Das Gefäßendothel eines 70 kg schweren Mannes wiegt ungefähr 1800 g und besitzt eine Fläche, welche sechs Tennisplätzen entspricht (Quaschnig et al. 2000). Es bildet eine 0,1 - 3 µm dicke Zellschicht, welche kontinuierlich das Blutgefäß auskleidet und verläuft mit seinen 25 - 50 µm langen und 10 – 15 µm breiten Zellen parallel zu der Längsachse des Gefäßes. Während die Kontinuität des Gefäßendothels unter physiologischen Bedingungen keine Unterbrechungen aufweist, kann Dicke und Struktur des Endothels je nach Organsystem variieren. So liegt das Gefäßendothel in der Haut des Menschen dünn und geschlossen, im Muskelgewebe dick und geschlossen und in endokrinen Organen und Harnwegen dünn und gefenstert vor.

Des Weiteren zeigen auch die Zell-Zell-Kontakte zwischen den einzelnen Endothelzellen unterschiedliche Vorkommensweisen. Die Vielfalt reicht von einfachen Überlappungen bis hin zu stark gefurchten Verbindungssystemen zwischen zwei Zellen. Neben der simplen Auskleidung von Gefäßen kommt ihm eine zentrale Rolle bei der Lumenregulation von Arterien zu.

Endothelin, Thromboxan A<sub>2</sub> und Prostaglandin H<sub>2</sub> sowie die Faktoren des Renin-Angiotensin-Systems wirken konstriktiv auf das betroffene Gefäß und werden vom Gefäßendothel selbst sezerniert. Von den drei Isoformen des Endothelins wird das Endothelin-1 von Endothelzellen produziert. Stimuliert wird diese Produktion von Faktoren, welche auch bei der Atherosklerose eine Rolle spielen. Modifiziertes Low Density Lipoprotein, Thrombin, Interleukin-1, Transforming growth factor beta 1, Angiotensin II und Hypoxie sorgen für eine gesteigerte Produktion von Endothelin-1. Normalerweise erfolgt die Sezernierung von Endothelin-1 abluminal, so dass physiologisch nur sehr geringe Wirkstoffspiegel im Plasma nachzuweisen sind. Bei Patienten mit einer manifesten Atherosklerose steht eine erhöhte Plasmakonzentration in direkter Korrelation mit der Schwere der Gefäßerkrankung (Gerok et al. 2007).

Endothelin-1 wirkt in niedrigen Dosen vasodilatierend, entfaltet aber in höheren Dosen eine hochpotente, langandauernde vasokonstriktive Wirkung (Yanagisawa et al. 1988, Boulanger und Lüscher 1990, Kiowski et al. 1991). Während die starke Vasokonstriktion auf einer Aktivierung des ETA-Rezeptors beruht, erfolgt die Vasodilatation über die Ak-

tivierung des ETB-Rezeptors, welcher eine Freisetzung der Vasodilatoren Stickstoffmonoxid (NO) und Prostacyclin induziert.

1980 zeigten Furchgott und Mitarbeiter erstmals eine Verbindung zwischen intakter endothelialer Funktion und Gefäßrelaxation auf (Furchgott und Zawadzki 1980). Sie entdeckten, dass eine Acetylcholin-vermittelte Vasodilatation nur bei gleichzeitig intaktem Gefäßendothel vonstattengehen kann. Weitere Studien zeigten, dass Acetylcholin und andere Mediatoren wie Bradykinin, Thrombin oder Histamin einen zu der Zeit noch unbekannt vasodilatierenden Faktor freisetzen. Diese „endothelium-derived relaxing factor“ (EDRF) genannte Substanz wurde in den folgenden Jahren weiter erforscht, bis 1987 Furchgott das erste Mal die Vermutung äußerte, EDRF zeige funktionelle und strukturelle Parallelen zu NO (Furchgott 1988). Nachfolgende Experimente bestätigten seine Annahme und zeigten, dass NO neben den genannten vasoaktiven Eigenschaften auch Einfluss auf die Thrombozytenaggregation nehmen kann. Die Eigenschaft Acetylcholins, über muscarinerge Rezeptoren am Endothel eine NO-Ausschüttung zu bewirken und gleichzeitig bei direktem Kontakt mit glatten Muskelzellen eine Kontraktion hervorzurufen, machte es zu der optimalen Substanz, um eine endotheliale Dysfunktion nachzuweisen.

NO und Prostacyclin wurden als die wichtigsten Vasodilatoren bezogen auf das Gefäßendothel isoliert. Man fand heraus, dass erhöhter Blutfluss verbunden mit erhöhten Scherkräften an der Endothelzellmembran und Hypoxie die Produktion und Ausschüttung der beiden vasoaktiven Mediatoren anregen (Furchgott und Zawadzki 1980).

Prostacyclin verstärkt die Füllung der cyclischen Adenosinmonophosphat-Speicher in glatten Muskelzellen und hemmt die Thrombozytenaggregation zusammen mit dem Mediator NO (Gerok et al. 2007).

### **1.1.2.2 Glatte Muskelzellen**

Glatte Muskelzellen sind spindelförmige, 20 – 200 µm lange und 3 – 10 µm breite Zellen und Hauptbestandteil der Media. Durch Kontraktion und Relaxation ist es der Zelle möglich, das Gefäßlumen und so den Blutstrom zu regulieren. Diese Regulation basiert auf einem komplexen Zusammenspiel vasokonstriktorisches und vasodilatatorisch wirkender Substanzen, welche zwischen den glatten Muskelzellen über Gap junctions wei-

tergegeben werden und an der Plasmamembran durch verschiedene Rezeptoren ihre Wirkung entfalten können.

Glatte Muskelzellen können morphologisch in eine synthetische und eine kontraktile Form eingeteilt werden. Der in adulten arteriellen Gefäßwänden vorherrschende Typ der kontraktiven glatten Muskelzelle ist durch einen hohen Anteil an Aktin-, Myosin- und Intermediärfilamenten gekennzeichnet (Robenek und Severs 1992), während synthetisierende Zellorganellen nur gering ausgebildet sind. Demzufolge besteht die Hauptaufgabe dieses Zelltypus in der Kontraktion und weniger in der Proliferation oder der Synthese (Campbell und Campbell 1989).

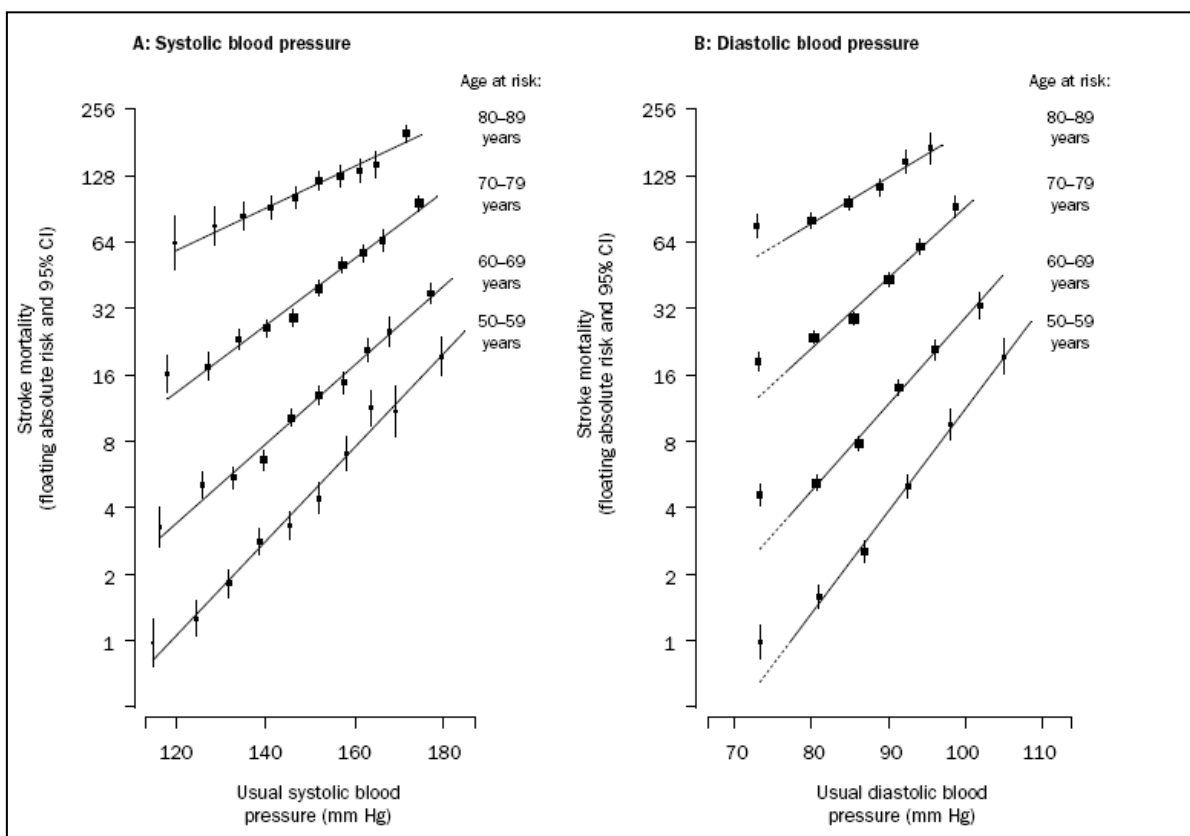
Dementgegen steht die synthetische Variante der glatten Muskelzelle. Diese Art der glatten Muskelzellen ist durch ein ausgeprägtes raues endoplasmatisches Retikulum, einen großen Golgi-Apparat und einen nur gering ausgeprägten kontraktiven Apparat gekennzeichnet. Der Aufgabenschwerpunkt dieser Form der glatten Muskelzelle ist demnach die Synthese und nicht die Kontraktion. So kann sie Wachstumshormone (z.B. Interleukin-6 (IL-6), Macrophage colony-stimulating factor, Granulocyte macrophage colony-stimulating factor), Zytokine und extrazelluläre Matrix (z.B. Kollagen, Proteoglykane, Elastin, Fibronectin, Laminin) herstellen (Plenz et al. 1997) und Rezeptoren für von Makrophagen, Endothelzellen und Thrombozyten sezernierte Stoffe ausbilden (Nilsson 1993).

## **1.2 Atherosklerose**

### **1.2.1 Risikofaktoren**

Die Pathogenese der Atherosklerose ist ein multifaktorielles Geschehen, welches zu einer allmählichen Plaqueentstehung und so zu einem (sub)totalen Gefäßverschluss führen kann. Meist beginnt die pathologische Veränderung der Gefäße schon im Kindesalter, klinisch manifest wird die Atherosklerose aber meist erst während der dritten oder vierten Lebensdekade. Herzinfarkt, Schlaganfall oder andere mit eingeschränkter Organperfusion assoziierte Erkrankungen sind die Folge. Die zugrunde liegenden morphologischen Veränderungen der arteriellen Intima sind eng an Risikofaktoren gebunden, welche das Auftreten einer manifesten Atherosklerose wahrscheinlicher machen. Verschiedene Risikofaktoren wie Nikotinkonsum, Bluthochdruck, Hypercholesterinämie,

Diabetes mellitus, Übergewicht, hohes Alter und körperliche Inaktivität spielen in der Pathogenese der Atherosklerose eine Rolle.



**Abbildung 2: Korrelation von Alter, Blutdruck und ischämisch bedingtem Herztod (Lewington et al. 2002).**

Rauchen übt seinen negativen Einfluss auf das Gefäßendothel aus, indem die im Tabakrauch enthaltenen Substanzen schon vorhandenes LDL oxidieren und so die Atherosklerose vorantreiben. Weiterhin beinhaltet Tabakrauch freie Radikale, welche sich negativ auf eine mögliche Vasodilatation auswirken (Morrow et al. 1995, Reilly et al. 1996). Als Folge steigt das Risiko der betroffenen Person für den kardialen Tod um das zwei- bis vierfache und die mittlere Lebenserwartung sinkt um etwa sechs Jahre (Schneider 2009). Auch die Hypercholesterinämie trägt ihren Teil zu einer entstehenden Atherosklerose bei. Steigt der LDL-Cholesterinanteil des Gesamtcholesterins oder sinkt der High Density Lipoprotein (HDL)-Cholesterinanteil, so erhöht sich das Atheroskleroserisiko der betroffenen Person. Zwar findet man bei Patienten mit einer Hypercholesterinämie eine gesteigerte NO-Synthese, zugleich sinkt jedoch die Bioverfügbarkeit von NO unter physiologische Werte. Eine Erklärung für diese Verschiebung im

NO-Stoffwechsel bietet eine durch die Hypercholesterinämie gesteigerte Superoxidproduktion und eine damit erhöhte Inaktivierung von NO.

Des Weiteren steigert das vermehrt vorkommende LDL die Produktion von oxidiertem (ox)-LDL und kurbelt so die Atherogenese weiter an, während ein vermindertes Vorkommen von HDL-Cholesterin den Abtransport von Cholesterin aus der Peripherie weiter erschwert (Anderson et al. 1995). Andere Risikofaktoren wie Bluthochdruck und hohes Alter zeigten in Untersuchungen eine enge Korrelation zum Atheroskleroseaufkommen. Je älter die Probanden und je höher systolischer und diastolischer Blutdruck sind, desto höher zeigte sich das Risiko, an einem durch Atherosklerose verursachten Ereignis, wie z.B. einem Herzinfarkt, zu sterben (siehe Abbildung 2: Korrelation von Alter, Blutdruck und ischämisch bedingtem Herztod (Lewington et al. 2002)).

### **1.2.2 Pathogenese**

Atherosklerose kann sowohl große Gefäße, wie zum Beispiel die Aorta, als auch kleine Arterien bis zu einem Durchmesser von mindestens drei Millimetern befallen. Besonders häufig findet man in Aorten, Karotiden, Koronarien, Hirnarterien und mittelgroßen Arterien der Extremitäten atherosklerotische Veränderungen. Insbesondere Gefäßabgänge und Abweichungen von einer konkaven Wandform bilden Prädilektionsstellen für eine Atherosklerose (Munro und Cotran 1988, Ross 1995).

Atherosklerotische Läsionen können in frühe, fortgeschrittene und komplizierte Läsionen differenziert werden. Jede dieser Stufen weist ihre eigenen morphologischen Veränderungen auf. So zeigen sich bei der frühen Läsion Fettstreifen, bei der fortgeschrittenen Läsion Fibrosen und atherosklerotische Plaques und bei der komplizierten Läsion Ulzerationen und Blutungen (Assmann 1982). Im Zentrum einer fortschreitenden Atherosklerose steht dabei die endotheliale Dysfunktion, eine durch den Mangel an NO begründete Funktionsstörung des Gefäßendothels, welche alle Teilbereiche des Endothels beeinträchtigt. Gefäßpermeabilität, Thrombozytenaggregation und die Gefäßweitenregelung sind bei der endothelialen Dysfunktion in ihrer Funktion eingeschränkt.

### **1.2.2.1 Frühe Läsionen**

#### **1.2.2.1.1 Erste Läsionen bis hin zum Fettstreifen**

Erste, makroskopisch noch nicht sichtbare Läsionen sind bereits im Kindesalter zu finden und stellen den ersten Schritt auf dem Weg zur manifesten Atherosklerose dar. In diesem Stadium treten Ansammlungen von Schaumzellen vor allem in Bereichen einer durch Blutdruck und Scherkräfte physiologisch verdickten Intima auf (Munro und Cotran 1988).

Verantwortlich für die Entwicklung dieser frühen Läsionen ist die verstärkte Einlagerung von ox-LDL in die Intima des betroffenen Gefäßes. Die Bindung von LDL an Glukosaminoglykane verlängert die Verweildauer des LDL im extrazellulären Raum deutlich. Nach erfolgter Ablagerung des LDL in der Intima kommt es zu einer Oxidation des LDL, welche dem LDL seinen atherogenen Charakter verleiht und die Atherosklerose vorantreibt (Fauci et al. 2008).

Eine Eigenschaft von ox-LDL zeigt sich in der Beeinflussung der Expression von Leukozytenadhäsionsmolekülen am Gefäßendothel. In der Gegenwart von ox-LDL steigt die Leukozytenadhäsion, und Monozyten wandern verstärkt in die Intima ein. In der Intima differenzieren die Monozyten zu Makrophagen und exprimieren Rezeptoren zur Aufnahme von LDL,  $\beta$ -Very Low Density Lipoprotein und für modifiziertes LDL. Der LDL-Rezeptor ermöglicht es den Makrophagen LDL aufzunehmen. Diese Aufnahme unterliegt jedoch einer mengengesteuerten Downregulation und verhindert so ein Überfüllen des Makrophagen (Munro und Cotran 1988).

Die Aufnahme des ox-LDL über Scavenger-Rezeptoren unterliegt jedoch keinem solchen Feedback-System. Ox-LDL wird in der Folge von den Makrophagen ungehindert aufgenommen und verleiht ihnen unter dem Mikroskop ein schaumiges Aussehen, was ihnen den Namen Schaumzellen verlieh. Allerdings können nicht nur Makrophagen zu Schaumzellen werden. Auch die in der Gefäßwand lokalisierten glatten Muskelzellen können über einen noch ungeklärten Mechanismus Cholesterin aufnehmen und so zu Schaumzellen werden.

Einen möglichen Weg des Abtransportes von überschüssigem Cholesterin aus der Peripherie bietet das HDL-Cholesterin. Dieses kann mittels Bindung über den HDL-Rezeptor Cholesterin aus dem betroffenen Bereich abziehen und zur Leber transportieren. Durch diesen reversen Cholesterintransport kann das am HDL gebundene



Cholesterin in der Leber umgewandelt und mit der Gallenflüssigkeit ausgeschieden werden. Übersteigt die Lipideinlagerung nun die körpereigenen Reparaturmechanismen, so reichern sich Lipoproteine und nekrotische Schaumzellen in der Intima an und ein Fettstreifen entsteht (Raines et al. 1996). Fettstreifen sind schmale, gelbliche, in Gefäßrichtung liegende Auftreibungen der Gefäßwand. Histologisch finden sich nekrotische Schaumzellen und vereinzelt T-Lymphozyten.

### **1.2.2.1.2 Intermediäre Läsionen**

Während Fettstreifen durch eine cholesterinarme Diät reversibel sind, kann eine intermediäre Läsion nicht wieder in den physiologischen Urzustand zurückversetzt werden. Diese nach der Pubertät zu findende Stufe der Atherogenese zeichnet sich durch eine vermehrte Ansammlung von extrazellulärer Matrix rund um diffus verteilte extrazelluläre Lipide aus (Ross 1995). Die entstehenden Lipidplaques weisen randständig Risse im Gefäßendothel auf, welche die Grundlage für eine Thrombusbildung sein können. Intermediäre Läsionen bilden die erste Form der Atherosklerose, welche sich durch Thrombosierung und Embolisierung wichtiger Gefäße verkomplizieren kann.

### **1.2.2.2 Fortgeschrittene Läsionen**

#### **1.2.2.2.1 Das Atherom**

Betrachtet man gereifte atherosklerotische Plaques, so kann man die Ausbildung zentraler lipidreicher Areale erkennen. Diese, auch als „nekrotischer Kern“ bekannten Bereiche, entstehen durch zugrunde gehende Schaumzellen und die daraus resultierende Freisetzung von modifiziertem LDL. Zytokine und Wachstumsfaktoren aus den Makrophagen-Schaumzellen werden aktiviert und entfalten ihren Einfluss auf das umliegende glatte Muskelgewebe der Media. Die glatten Muskelzellen reagieren auf diese Zytokine und Wachstumsfaktoren, indem sie in den Bereich der Sub-Intima einwandern und dort mit der gesteigerten Produktion von extrazellulärer Matrix beginnen. Durch diesen Prozess wandeln sich die Fettstreifen ab der dritten Lebensdekade in ein Atherom um (Fauci et al. 2008).

Atherome bestehen aus einem lipidreichen Kern und einer Atheromkappe. Die physiologische Struktur der Arterienwand wird im Bereich der Intima aufgelöst, und eine atherosklerotische Plaque entsteht. Die dem Lipidkern aufgelagerte Atheromkappe besteht aus eingewanderten glatten Muskelzellen, elastischen Fasern, Kollagen und Proteoglykanen (Munro und Cotran 1988). Histologisch sind an den Kappenrändern Makrophagen und T-Lymphozyten zu finden. Des Weiteren erfolgt eine Neovaskularisation aus der Adventitia (Stary et al. 1995). Durch das fortschreitende Einlagern von ox-LDL, Schaumzellen und glatten Muskelzellen wächst das Atherom und verdickt so die Arterienwand, was allerdings nicht unbedingt zu einer Lumeneinschränkung führen muss.

#### **1.2.2.2 Das Fibroatherom**

Während das Atherom nur aus einem Lipidkern und der aufgelagerten Atheromkappe besteht, handelt es sich bei einem Fibroatherom um mehrere übereinanderliegende Lipidkerne, getrennt durch fibröse Gewebeschichten. Das Fibroatherom bildet sich in der Nähe der Media in luminaler Richtung und wird wie das Atherom von einer Atheromkappe begrenzt. Mineralisiert ein Fibroatherom, so wird von einer kalzifizierenden Läsion gesprochen, welche hauptsächlich in den unteren Extremitäten lokalisiert ist (Stary et al. 1995). Makroskopisch sind diese beiden Läsionen jedoch nur schwer zu unterscheiden, weshalb beide unter dem Begriff der fibrösen Plaque zusammengefasst werden.

#### **1.2.2.3 Die komplizierte Läsion**

Bei weiterer Progression der Läsion treten konzentriert strukturelle Endotheldefekte auf. Durch das damit einhergehende Freilegen der Basalmembran findet man in diesem Bereich gehäuft eine Adhäsion von Thrombozyten und eine Bildung von Mikrothromben. Neben der mechanischen Verlegung des betroffenen Gefäßes und einer gesteigerten Embolisationsgefahr bei Abreißen des Thrombus fördern die anheftenden Thrombozyten die weitere Progression der atherosklerotischen Plaque durch die Ausschüttung verschiedener Mediatoren. So unterstützt z. B. der von den Thrombozyten sezernierte platelet derived growth factor die Migration glatter Muskelzellen und die weitere Produktion von extrazellulärer Matrix (Fauci et al. 2008).

Im Laufe des Läsionswachstums sprossen ausgehend von den Vasa vasorum Mikrogefäße in den Bereich der fibrösen Plaque ein, welche Leukozyten einen weiter verbesserten Zugang zur Plaque gewähren. Kommt es dann innerhalb des plaqueeigenen Gefäßsystems zu Blutungen, beschleunigen diese die Plaqueentwicklung und verschlechtern die Prognose weiter. Eine weitere Folge der genannten Blutungen können Ablagerungen kalziumbindender Proteine in der atherosklerotischen Läsion sein. Die daraus resultierenden Verkalkungen gaben der Krankheit im Volksmund den Namen „Gefäßverkalkung“.

Die kontinuierliche Vergrößerung der Plaque kann per se schon einen eingeschränkten Durchfluss im betroffenen Gefäß zur Folge haben. Allerdings finden sich perfusionsrelevante Einschränkungen erst bei über 40 % Obliteration des Gefäßes. Durch die endotheliale Dysfunktion und die Freilegung von Thromboplastin, welches subendothelial in die Gefäßwand eingelagert ist, kommt es weiterhin zu einer erhöhten Thromboseneigung. Das bei einer Plaqueruptur freigelegte Thromboplastin ist ein Gerinnungsfaktor und ermöglicht die Bildung von Thrombin aus Prothrombin. Die dadurch lokal einsetzende Blutgerinnung bewirkt die Bildung eines Thrombus. Abhängig von dessen Form und Größe kann die Thrombosierung des betroffenen Gefäßes gravierende Folgen für den folgenden Teil des Gefäßsystems haben. In Bezug auf die koronare Herzerkrankung (KHK) mag dies von einer klinisch kaum apparenten Minderperfusion bis hin zu einem manifesten Herzinfarkt reichen (Fauci et al. 2008). Befinden sich die Plaques in der Aorta oder in anderen perfusionsrelevanten Gefäßen, so können Schlaganfälle, transitorisch ischämische Attacken und periphere Gefäßverschlüsse die Folge sein (Zabalgoitia et al. 1998).

Komplizierte Läsionen werden von Stary et al. (1995) in drei histologische Kategorien eingeteilt. Die erste Form der komplizierten Läsion umfasst mikroskopische und makroskopische Risse oder Ulzerationen in der Atheromkappe, die zweite Form beinhaltet Hämatome oder Hämorrhagien im Bereich des Atheroms, und die dritte Form weist eine Thrombusbildung im betroffenen Gefäß auf.

Über Stabilität oder Instabilität der Plaque entscheidet der Gehalt von Makrophagen im Bereich der Plaqueschultern. Sind dort viele Makrophagen enthalten, so kommt es zu einer Destabilisierung und so zu strukturellen Defekten im Bereich der Endothelzellschicht. Dagegen sorgt eine gleichmäßig dicke und dichte Atheromkappe für eine erhöhte Stabilität der Plaque und ein verringertes Risiko einer Plaqueruptur (Fuster et al. 1992).

### **1.3. Ziele der Arbeit**

Eine Regulation der Organperfusion über Vasokonstriktion und Vasodilatation ist eines der lebenswichtigsten Funktionen unseres Gefäßsystems. Die Rolle von asymmetrischem Dimethylarginin (ADMA) in der Regulation der Gefäßweitstellung und seine Rolle als wichtiger Faktor in der Pathogenese der Atherosklerose und Atherosklerose-assoziiierter Erkrankungen soll in dieser Arbeit beleuchtet werden. Viele wissenschaftliche Arbeiten haben in den letzten Jahren verschiedene Teile der ADMA-Wirkung aufgedeckt. Doch wie diese Teilkomplexe zusammenhängen, und welche Rolle erhöhte ADMA-Spiegel dabei spielen, ist bisher ungeklärt. Ist ADMA als Ursache einer endothelialen Dysfunktion zu sehen oder spiegelt ein erhöhter ADMA-Spiegel nur tieferliegende, bisher unerforschte Ursachen einer Atherosklerose wider?

Um die Wirkung von ADMA erfassen zu können, müssen Stoffwechsel und Wirkung von NO, L-Arginin und ADMA in einen sinnvollen Zusammenhang gebracht werden. Deshalb untersucht diese Arbeit verschiedene Erklärungsansätze, welche die Rolle von ADMA, NO und L-Arginin bei der Pathogenese verschiedener Atherosklerose-assoziiierter Erkrankungen behandeln. Um eine bessere Übersicht zu gewährleisten, erfolgt die Diskussion der Ergebnisse dabei im Ergebnisteil. Zusammenfassend soll am Ende der Arbeit ein Überblick über den aktuellen Stand der Forschung und Zusammenhänge zwischen den einzelnen Themengebieten gegeben werden.

## **2 Ergebnisse und Diskussion**

### **2.1 Stickstoffmonoxid**

#### **2.1.1 Synthese und Stoffwechsel**

NO ist ein reaktives, farbloses Gas mit Radikalcharakter. Es fungiert im menschlichen Körper als intra- und extrazellulärer Botenstoff, welcher in den verschiedensten Organsystemen eine Rolle spielt. So nimmt es im Immun-, Gefäß- und Nervensystem eine regulierende Aufgabe wahr. Trotz seines Radikalcharakters weist NO eine vergleichsweise geringe Reaktivität auf, was es dem Molekül erst ermöglicht, in benachbarte Zellen zu diffundieren, ohne sofort oxidiert zu werden. Dennoch ist NO nicht stabil genug, um lange im menschlichen Körper zu existieren. In Gegenwart von Proteinen oder Me-

tallen oxidiert das Radikal zu  $\text{NO}_2^-$  oder  $\text{NO}_3^-$  und verliert so seine signalübermittelnde Wirkung (Fukuto 1995).

Moncada et al. (1989) zeigten, dass das Enzym NO-Synthase (NOS) aus dem Substrat L-Arginin unter Abspaltung des Radikals NO die Aminosäure L-Citrullin herstellen kann. Die NOS liegt im menschlichen Körper in drei Isoformen vor. Zusätzlich zur endothelialen NOS (eNOS) fand man auch eine neuronale Form der NOS (nNOS), welche wie die eNOS eine kalziumabhängige Aktivität zeigt. Die induzierbare NOS (iNOS), welche vor allem in Makrophagen zu finden ist, arbeitet kalziumunabhängig und weist gerade bei entzündlichen Prozessen oder einem Endotoxinschock eine erhöhte Aktivität auf. Sie ist in der Lage, schnell große Mengen an NO zu produzieren und wird durch die Entzündungs- und Infektmediatoren Endotoxin, Interleukin (IL) und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) aktiviert (Gerok et al. 2007). Zusätzlich zu den drei Hauptformen der NOS existieren noch viele posttranslational modifizierte oder durch Splicing veränderte Varianten der NOS. Eine dieser sekundär modifizierten Isoformen stellt die mitochondriale NOS dar. Die mitochondriale Form der NOS basiert auf der Gensequenz einer nNOS, welche durch Splicing modifiziert in der inneren Mitochondrienmembran vorliegt. Da diese Unterform der nNOS nicht auf mitochondrialer DNA, sondern auf DNA des Zellkerns basiert, liegt der Schluss nahe, die mitochondriale Unterform der nNOS werde im Zytosol synthetisiert und sekundär in das Mitochondrium integriert. Der genaue Prozess des Transports ist bisher aber ungeklärt (Finocchietto et al. 2009).

Mittels NG-NG-Monomethylarginin (L-NMMA), einem kompetitiven Hemmstoff der NOS, konnte nachgewiesen werden, dass die Isoformen eNOS und nNOS eine konstante Produktion von NO sicherstellen und somit zu einer ständigen Freisetzung dieses Radikals beitragen. Appliziert man L-NMMA in eine Kaninchenaorta, so kann man den Verlust der basalen Relaxation des Gefäßes aufgrund des Fehlens von NO beobachten (Rees et al. 1989). Ein eindeutiger Hinweis auf eine zentrale Rolle der NOS in der Regulation des basalen Gefäßtonus.

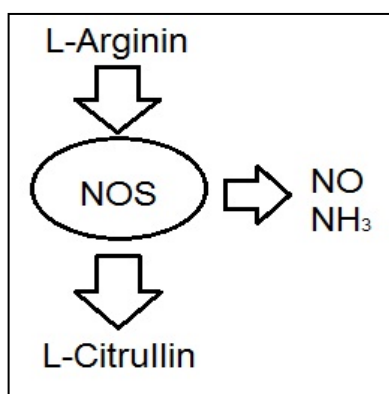


Abbildung 3: NO-Synthese

Wegen seiner geringen Halbwertszeit von zwei Sekunden muss NO im menschlichen Körper kontinuierlich neu synthetisiert werden (Furchgott und Zawadzki 1980). Diese Aufgabe übernimmt die eNOS. Ausgelöst durch einen er-

höhten Blutfluss und somit stärkere Scherkräfte an der Endothelzelle öffnen sich Calciumkanäle in der Endothelzellmembran und aktivieren über Calmodulin die calciumabhängige eNOS (Fleming et al. 1997).

### 2.1.2 Wirkung

Nach der abluminalen Sezernierung kann das NO aufgrund seiner geringen Größe und neutralen Ladung in die glatten Muskelzellen der Media diffundieren und dort das Häm-Eisen der löslichen Guanylatcyclase nitrosylieren. Mit diesem Schritt beginnt eine Akkumulation des second messengers cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP), welcher seinerseits nun die cGMP-abhängige Proteinkinase G aktiviert. Diese Proteinkinase phosphoryliert in der glatten Muskelzelle den Inositol 1,4,5-triphosphat Rezeptor. Der Inositol 1,4,5-triphosphat Rezeptor stellt den wichtigsten Auslöser für calciumgesteuerte Signalwege in der Zelle dar. Daher senkt das akkumulierende cGMP über diesen Rezeptor die intrazelluläre Calcium-Konzentration und vermittelt so eine Vasodilatation (Denninger und Marletta 1999).

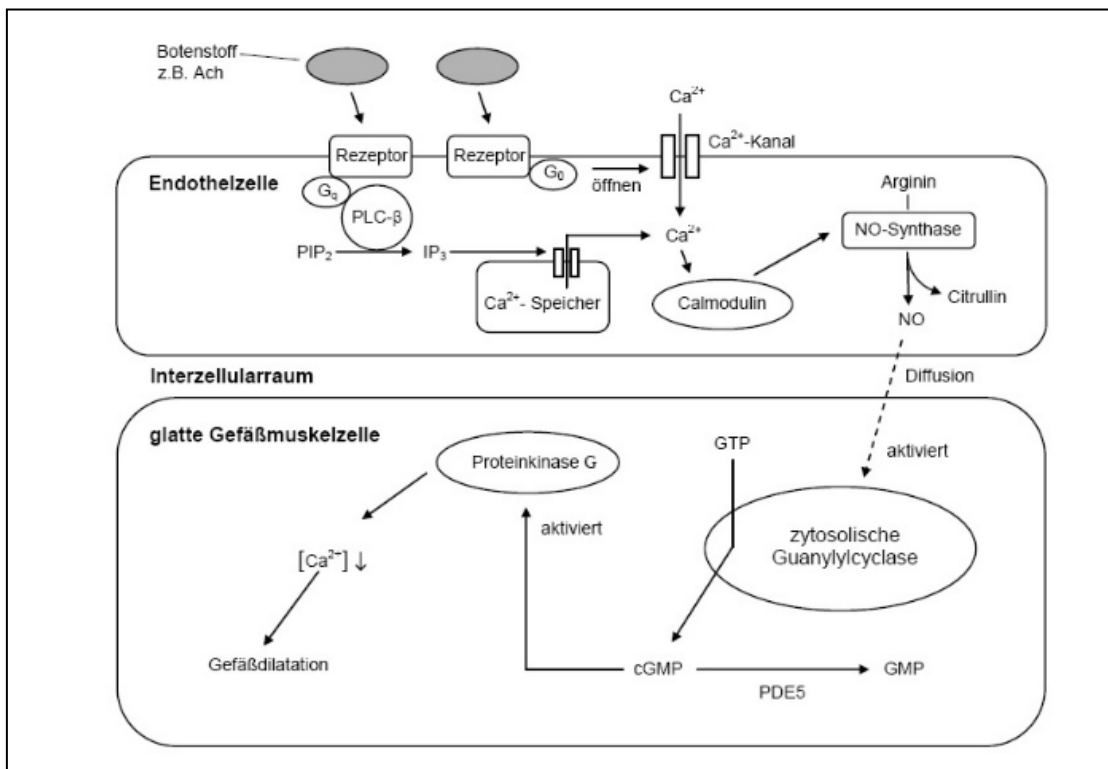


Abbildung 3: Regulation der Freisetzung von NO und seine Wirkung auf die glatte Muskelzelle (Dieterich 2008).

Bei zunehmender Freisetzung von NO aus dem Gefäßendothel wird parallel die Wirkung vieler Vasokonstriktoren wie Angiotensin II, Noradrenalin, Endothelin und Serotonin unterdrückt, was den vasodilatativen Effekt des NO noch verstärkt (Cooke und Dzau 1997).

NO hat nicht nur einen vasodilatatorischen Effekt, es wurden auch Veränderungen in der Thrombozytenaggregation (Buechler et al. 1994), eine gesteigerte Proliferationshemmung glatter Muskelzellen (Ignarro et al. 2001) und die Rolle von NO in der Signaltransduktion nicht-adrenerger und nicht-cholinerger Nervenzellen nachgewiesen (Jaffrey und Snyder 1995). Gelangt NO in das Zellinnere eines Thrombozyten, so bindet es auch dort an die lösliche Guanylatcyclase. cGMP wird gebildet und die Proteinkinase G aktiviert den Inositol 1,4,5-triphosphat Rezeptor, was absinkende Kalziumspiegel und die Hemmung der Fähigkeit zur Thrombozytenaggregation erklärt. Zudem phosphoryliert cGMP Schlüsselemente der Thrombozytenaktivierung wie den Thromboxan A<sub>2</sub>-Rezeptor, welches ebenfalls zu einer gesenkten Aggregation beiträgt (Wang et al. 1998). Neben der Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase spielen bei der NO-abhängigen Regulation der Thrombozytenaggregation auch andere, nicht über cGMP vermittelte Regelkreise eine Rolle. So regt die Anwesenheit von NO die Aktivität der sarko-endoplasmatischen Calcium-ATPase (SERCA) an und beschleunigt so die Füllung zellulärer Kalziumspeicher, was den intrazellulären Kalziumspiegel sinken lässt und auf diesem Weg eine Thrombozytenaggregation cGMP-unabhängig hemmt. Die Lokalisierung der SERCA nahe der Zellmembran erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass extrazelluläres NO bei Eintritt in die Zelle vor seinem Zusammentreffen mit der cyclischen Guanylatcyclase mit der SERCA reagiert und so die Produktion des second messengers cGMP umgeht (Homer und Wanstall 2002).

Auch die Proliferationshemmung von glatten Muskelzellen durch NO basiert auf einem cGMP-unabhängigen Regelkreis. NO sorgt für eine Inhibierung des Arginin-Polyamin-Stoffwechsels und behindert ein rasches Zellwachstum, indem es mit der Ornithin-Decarboxylase (ODC) und der Arginase zwei wichtige Enzyme dieses Stoffwechselweges hemmt. Normalerweise sorgt der Polyamin-Stoffwechselweg für eine kontinuierliche Produktion der Polyamine Putrescin, Spermidin und Spermin, welche neben ihrer antioxidativen Wirkung vor allem die DNA stabilisieren. Werden nun Arginase und ODC gehemmt, so resultiert ein negativer Effekt auf die Proliferationsfähigkeit der betroffenen Zelle. Bezogen auf die Atherogenese legen diese Beobachtungen eine Verbindung zwischen Proliferation von glatten Muskelzellen und erniedrigten NO-Spiegeln nahe. Im

Zuge der endothelialen Dysfunktion verlieren die herabgesetzten NO-Konzentrationen ihren hemmenden Einfluss auf glatte Muskelzellen, welche mit vermehrter Proliferation reagieren und die bei der Atherosklerose beobachtbare Wandverdickung auslösen (Ignarro et al. 2001).

### **2.1.3 Stickstoffmonoxid-Mangel**

Der Mangel an endothelialelem NO wird heute als ein früher Marker vieler (kardio-)vaskulärer Erkrankungen gesehen. Fallen die NO-Spiegel unter physiologische Werte, so kann eine fehlende oder reduzierte Vasodilatation des betroffenen Gefäßes beobachtet werden. Einerseits kann ein Mangel an NO-produzierender eNOS, andererseits ein Fehlen der für dessen Funktion benötigten Co-Faktoren dem Mangel an NO zugrunde liegen. Sind neben Arginin die Co-Faktoren Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>), Flavin-Adenosin-Dinucleotid und Flavin-Mononucleotid nicht in ausreichendem Maße vorhanden, so kann kein NO produziert werden, und der NO-Spiegel sinkt (Cai und Harrison 2000).

Des Weiteren sind zahlreiche andere Substanzen in der Lage, die Bildung von NO zu beeinflussen. Im menschlichen Organismus wurden ADMA und freie Radikale (reactive oxygen species → ROS) als die potentesten Hemmstoffe der NOS identifiziert (Vallance et al. 1992, Moncada 2005). Während ADMA die Synthese von NO hemmt, reagieren die ROS mit NO zu Peroxynitrit.

Das im oxidativen Stress gebildete Hyperoxidanion ( $O_2^-$ ) ist in der Lage, aus NO Peroxynitrit zu bilden. Peroxynitrit konnte in Studien mit Krankheiten wie Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus oder der koronaren Herzerkrankung in Verbindung gebracht werden. Bei diesen Krankheiten zeigte sich ein erhöhtes ROS-Aufkommen und damit einhergehend eine eingeschränkte Vasodilatation. Den Grund eines solchen verstärkten Auftretens von ROS konnte man in einer gesteigerten Produktion von Radikalen und in geminderten antioxidativen Kapazitäten betroffener Zellen finden. Durch die Gabe von Antioxidantien konnte in Experimenten ein Rückgang von ROS und Vasodilatation beobachtet werden (Greenacre und Ischiropoulos 2001).

Vaskuläres Cytochrom P450 ist in der Lage, Hyperoxidanionen zu bilden. Die Hemmung des vaskulären Cytochrom P450 zeigte in Experimenten eine verstärkte NO-vermittelte Vasodilatation und untermauerte die Annahme, vaskuläres Cytochrom P450



könnte signifikant zu erhöhten ROS-Spiegeln beitragen. Ferner zeigte sich eine zentrale Rolle der vaskulären Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH)-Oxidase. Diese ist an der endothelialen Zellmembran lokalisiert und ist in der Lage,  $O_2^-$  zu bilden. In verschiedenen Experimenten konnte eine Verbindung der NADPH-Oxidase zu Bluthochdruck und einem Entkoppeln der eNOS hergestellt werden.

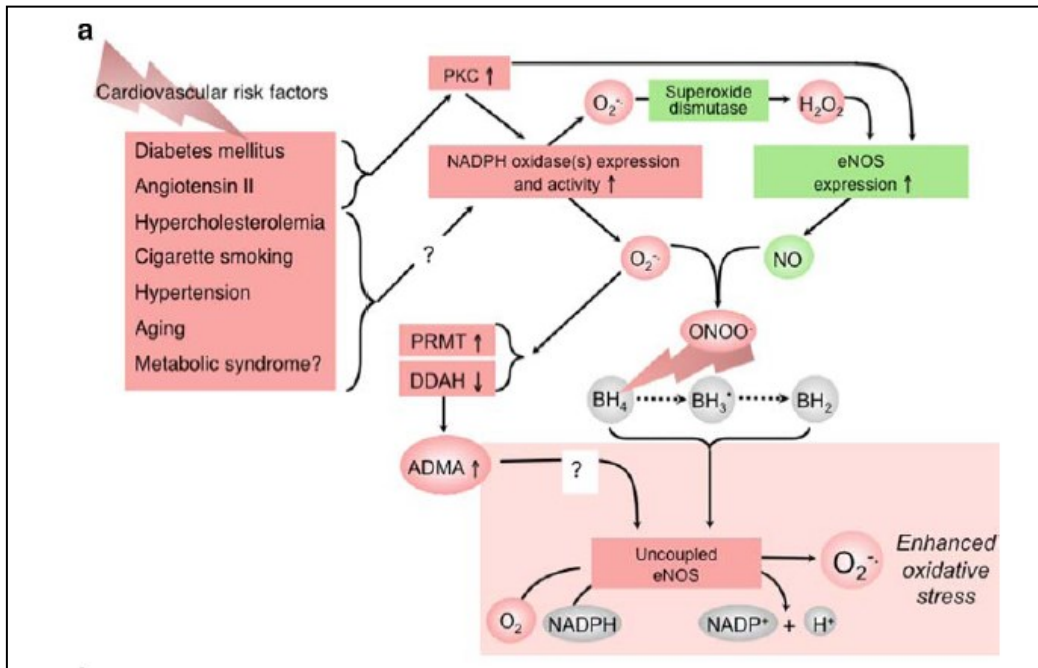


Abbildung 4:  $BH_4$  als zentraler Co-Faktor in der Regulation der eNOS (Förstermann 2010).

Fehlen der eNOS zur Produktion von NO L-Arginin oder  $BH_4$ , bleibt das Enzym unbesetzt und generiert ROS. Sowohl bei Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie als auch bei Hypertonie konnte eine unbesetzte eNOS einhergehend mit erhöhten ROS nachgewiesen werden. Als wichtigster Co-Faktor zeigte sich  $BH_4$ . In Experimenten an isolierten Arterien löste ein Mangel an  $BH_4$  eine endotheliale Dysfunktion aus, welche sich durch ein Hinzufügen des Co-Faktors wieder beheben ließ (Cosentino und Luscher 1998). Auch in Tiermodellen konnte eine Substitution von  $BH_4$  die endotheliale Dysfunktion bei Diabetes mellitus (Heitzer et al. 2000), Hypercholesterinämie (Stroes et al. 1997) oder essentieller Hypertonie (Higashi et al. 2002) beheben. Diese Ergebnisse legen eine zentrale Rolle eines Mangels an  $BH_4$  in der Atherogenese nahe. Der stark reduzierende chemische Charakter von  $BH_4$  zeigt, dass im Falle eines vermehrten Auf-

treten von ROS entsprechend viel  $\text{BH}_4$  zu  $\text{BH}_2$  oxidiert und somit für die eNOS unbrauchbar gemacht wird. Peroxynitrit, das Reaktionsprodukt von NO und  $\text{O}_2^-$ , ist in der Lage,  $\text{BH}_4$  zu  $\text{BH}_2$  zu oxidieren und so als Co-Faktor der eNOS zu eliminieren. Das dadurch vorangetriebene Abfallen der  $\text{BH}_4$ -Konzentrationen verstärkt seinerseits das Entkoppeln der NOS und erzeugt so einen selbstunterhaltenden Kreislauf (Xia et al. 1996, Förstermann 2010). Für diese Annahme spricht der starke Rückgang von  $\text{BH}_4$  bei allen ROS-assoziierten Krankheiten wie Diabetes mellitus, Hypertonie oder Hypercholesterinämie. Im Umkehrschluss ließ sich bei diesen Krankheiten durch eine  $\text{BH}_4$ -Substitution die physiologische eNOS-Funktion wiederherstellen.

## **2.2 L-Arginin**

### **2.2.1 Synthese und Stoffwechsel**

L-Arginin ist eine für den Menschen halbessenzielle Aminosäure. Der menschliche Körper kann L-Arginin zwar aus Glutamin, Glutamat und Prolin neu synthetisieren, depletierete Vorräte dieser Aminosäure können auf diese Weise allerdings nicht wieder aufgefüllt werden (Böger und Bode-Böger 2001). In diesem Fall muss L-Arginin durch die Nahrung aufgenommen werden. Es liegt in zwei isomeren Formen, D-Arginin und dem in menschlichen Proteinen zu findenden Enantiomer L-Arginin vor (Castillo et al. 1993, 1994).

Der Abbau erfolgt im Harnstoffzyklus. In diesem für den Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen wichtigen Zyklus spaltet das Enzym Arginase L-Arginin zu Ornithin und Harnstoff. Des Weiteren dient L-Arginin der Kreatinkinase zusammen mit L-Glycin als Substrat und trägt so zur Herstellung von Kreatinphosphat bei.

Mit insgesamt vier Stickstoffatomen bildet Arginin den wichtigsten Stickstofflieferanten unseres Körpers und gilt als Vorläufer des vasodilatierend wirkenden NO. L-Arginin fungiert dabei als Substrat der NOS und stellt so den benötigten Stickstoff für die NO-Synthese zur Verfügung.

### **2.2.2 Pharmakokinetik**

Nach der intravenösen Gabe einer definierten Menge L-Arginin erreichen die Plasmaspiegel nach ca. 20-30 Minuten ihren Höhepunkt. Gibt man das Medikament oral, so

erreicht man nach ca. 60 Minuten das Wirkstoffmaximum. Die Halbwertszeit nach einer oralen Dosis liegt zwischen eineinhalb und zwei Stunden (Bode-Böger et al. 1998).

### **2.2.3 Wirkmechanismus**

Lange Zeit war unklar, wie L-Arginin auf die endotheliale Dysfunktion einwirkt. Das sogenannte „L-Arginin-Paradox“ erschwerte das Verständnis der Wirkweise. Das „L-Arginin Paradox“ (Tsikas et al. 2000) beschreibt eine steigende NO-Produktion trotz vollständiger Sättigung der NOS mit dem Substrat L-Arginin. Wird L-Arginin hinzugegeben, so sind eine gesteigerte NO-Produktion und die damit einhergehenden vasoaktiven Effekte trotz bereits vorheriger ausreichender L-Argininspiegel beobachtbar. So konnte bei kardiovaskulär erkrankten Patienten mit erhöhten ADMA-Plasmaspiegeln gezeigt werden, dass eine Substitution mit L-Arginin eine messbare Erhöhung von NO nach sich zog, während gesunde Patienten ohne erhöhte ADMA-Spiegel keinerlei Veränderung der NO-Ausschüttung entwickelten (Hornig et al. 1998). Heute kristallisiert sich eine immer zentralere Rolle des ADMA heraus. L-Arginin liegt bei einer Hochdosis-Substitution in so stark erhöhter Konzentration an der NOS vor, dass es den Inhibitor ADMA kompetitiv verdrängt und so die NOS-Aktivität steigert (Böger und Bode-Böger 2001). Des Weiteren deutet vieles darauf hin, dass L-Arginin antioxidative Eigenschaften aufweist (Sydow et al. 2003). So könnte es Hyperoxidationen abfangen oder das Substrat BH<sub>4</sub> regenerieren. Die NOS würde so seltener im entkoppelten Zustand vorliegen, würde weniger Sauerstoffradikale produzieren und so mehr NO zur Verfügung stellen. Auch eine L-Arginin-getriggerte Freisetzung von Insulin und eine damit einhergehende Hemmung der Freisetzung von Wachstumshormonen wird diskutiert, konnte bisher aber nur in Tierversuchen beobachtet werden (Bode-Böger et al. 1999).

### **2.2.4 Wirkung auf die Atherogenese**

Durch seine Rolle bei der Synthese des Vasodilatators NO kommt L-Arginin eine bedeutende Position innerhalb der Atherogenese zu, bei welcher der endotheliale L-Arginin-/NO-Stoffwechsel in gestörter Form vorliegt. In den letzten Jahren wurde versucht, eine vorliegende endotheliale Dysfunktion durch eine orale Substitution von L-Arginin zu beheben oder abzumildern.

So konnte in Tierversuchen gezeigt werden, dass bei Versuchstieren mit induzierten atherosklerotischen Gefäßschäden die Substitution von L-Arginin zu einer endothelvermittelten Vasodilatation führt. Die Thrombozytenaggregation wird dosisabhängig gehemmt (Adams et al. 1995, Bode-Böger et al. 1994) und die endogene NO-Synthese zeigt sich gesteigert. Zudem konnte neben einer Verbesserung der Vasodilatation eine verminderte Plaquebildung in der Intima cholesteringefütterter Kaninchen festgestellt werden (Böger et al. 1997).

Inzwischen konnten zahlreiche Studien die positive Wirkung einer akuten oder chronischen L-Arginin-Substitution belegen. So zeigte sich ein positiver Effekt bei Hypercholesterinämie (Clarkson et al. 1996), stabiler Angina pectoris (Ceremuzynski et al. 1997), Herzinsuffizienz (Rector et al. 1996), KHK (Tousoulis et al. 1997) und der small vessel disease (Lerman et al. 1998).

Die Wirkung von L-Arginin auf die Endothelfunktion wurde in der Vergangenheit in verschiedenen Studien untersucht. So konnte nachgewiesen werden, dass mittels einer intravenösen Hochdosis-Gabe von L-Arginin sowohl bei jungen gesunden, als auch bei älteren und gefäßkranken Probanden eine Vasodilatation induziert werden kann (Bode-Böger et al. 1996, 1994). Verabreichte man die Aminosäure ausschließlich per os, so zeigten durch Atherosklerose vorgeschädigte Patienten eine Vasodilatation (Bode-Böger et al. 2003), junge und gesunde Probanden dagegen keinerlei Veränderung des Gefäßlumens (Adams et al. 1995). Studien, welche den Einfluss von L-Arginin auf eine KHK untersuchten, kommen zu einem ähnlichen Ergebnis. Die orale Gabe von 21 g pro Tag über drei Tage zeigte eine vasodilatierende und in der Folge besser perfundierende Wirkung (Adams et al. 1997). Eine geringere Dosis (9 g/Tag über drei Tage) brachte jedoch keine Verbesserung des Krankheitsbildes mit sich (Blum et al. 2000).

Zusammenfassend zeigen diese Studien, dass eine Hochdosis-Substitution von L-Arginin eine Vasodilatation bei atherosklerotisch vorgeschädigten Patienten zur Folge hat, während Patienten ohne Atherosklerose keinerlei Gefäßerweiterung zeigten.

2002 verglichen Preli et al. (2002) 17 Studien, in welchen sie die Wirksamkeit von L-Arginin in Bezug auf atherosklerotisch geschädigte Gefäße untersuchten. Fünf dieser Studien zeigten keinerlei Vorteil durch die Gabe von L-Arginin, während die restlichen zwölf Studien positive Effekte einer L-Arginin-Substitution auf Vasokonstriktion und Leukozytenadhäsion belegten. Es liegen ferner Arbeiten vor, welche neben einer aus-

bleibenden positiven Wirkung sogar auf eine erhöhte L-Arginin-assoziierte Mortalität hinweisen und deshalb abgebrochen werden mussten (Schulman et al. 2006).

Vorliegende Studien zeigen demnach in Bezug auf die Wirksamkeit einer L-Arginin-Substitution gegensätzliche Ergebnisse. Betrachtet man jedoch die Voraussetzungen der Studien, so fällt auf, dass Patienten, welche unter einer Hypercholesterinämie leiden, von einer L-Arginin-Substitution profitieren, während Patienten, welche eine endotheliale Dysfunktion auf dem Boden eines Diabetes mellitus oder Hypertonus ausbilden, nicht von einer L-Arginin-Substitution profitieren. Pathologisch gesteigerte ADMA-Spiegel könnten dafür eine Erklärung bieten. Während bei der Hypercholesterinämie die ADMA-Spiegel ansteigen, konnten bei Hypertonus oder Diabetes mellitus keine oder nur gering gesteigerte ADMA-Spiegel festgestellt werden (Preli et al. 2002).

Wang et al. (2006) gelang es nachzuweisen, dass L-Arginin die Fähigkeit hat, das ADMA-abbauende Enzym Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase (DDAH) in Hepatozyten kompetitiv zu inhibieren (Wang et al. 2006). L-Arginin hat in seiner Konzentration also eine regulierende Wirkung auf den ADMA-Stoffwechsel und kann durch seine Anwesenheit den Abbau von ADMA verhindern. Dagegen fungiert L-Arginin ebenfalls als Substrat der NOS und trägt so zur Produktion von NO bei. Es wurde beobachtet, dass bei L-Arginin-Substitution sowohl ADMA- als auch L-Arginin-Plasmaspiegel ansteigen (Wilcken et al. 2006). Diese Hinweise deuten auf ein regulierendes Gleichgewicht im ADMA-L-Arginin-Stoffwechsel, welches durch eine Hochdosissubstitution von L-Arginin beeinflusst werden kann. Ob eine L-Arginin-Substitution Vorteile für den Patienten bringt, ist immer noch zu klären.

### 2.3. ADMA

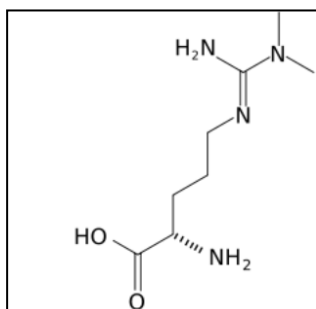


Abbildung 6:  
Struktur von ADMA.

ADMA stellt eines der methylierten Derivate der Aminosäure L-Arginin dar. L-NMMA und ADMA inhibieren kompetitiv die NOS und senken so den NO-Spiegel (Rees et al. 1990, Vallance et al. 1992 b). Ein weiteres Derivat des L-Arginins, das symmetrische Dimethylarginin (SDMA), ist ein inaktives Stereoisomer des ADMA und inhibiert im Gegensatz zu diesem die NOS nicht direkt. Es steht vielmehr beim Transport über die

Zellmembran mit L-Arginin, L-NMMA und ADMA in Konkurrenz und kann so die NO-Synthese indirekt beeinflussen, indem es die Aufnahme von L-Arginin hemmt (Closs et al. 1997).

Der Grund, warum sich das wissenschaftliche Interesse vor allem auf ADMA fokussiert, ist der etwa zehnmal höhere Plasmaspiegel des ADMA bezogen auf L-NMMA im menschlichen Körper (Gasper 2006).

### **2.3.1            Synthese**

Methylarginine werden durch posttranslationale Modifikation unter Zuhilfenahme von S-Adenosylmethionin, einem Zwischenprodukt des Methionin-Homocystein-Stoffwechsels, im Zuge der Proteinbiosynthese hergestellt (Chiang et al. 1996, Gary et al. 1996). Sogenannte Protein N-Arginin Methyltransferasen (PRMT) können Arginin methylieren und bilden damit Proteine, welche bei der Transkription eine Rolle spielen (Najbauer et al. 1993). Es gibt zwei Typen der PRMT. PRMT des Typs I katalysieren die asymmetrische Dimethylierung und Monomethylierung von Argininresten und produzieren ADMA und L-NMMA. PRMT des Typs II katalysieren dagegen die symmetrische Dimethylierung und Monomethylierung von Argininresten, was zu einer Bildung von SDMA und L-NMMA führt (Anthony et al. 2005). L-NMMA kann von beiden Methyltransferasen produziert werden und bildet höchstwahrscheinlich eine Zwischenstufe in der Synthese von SDMA und ADMA (McBride und Silver 2001).

Die bei der Aktivität der PRMT entstehenden Komplexe aus RNA und Protein, sogenannte „heterogenous nuclear ribonuclear proteins“ (hnRNP), sind im Kern menschlicher Zellen zu finden. Das in diesen Proteinkomplexen eingelagerte Methylarginin wird bei der Hydrolyse der hnRNP frei und kann so in das den Kern umgebende Zytosol gelangen. Aufgrund der Kopplung von Hydrolyse und Freiwerden des Methylarginins kann man das Vorhandensein zytosolischen Methylarginins als Produkt des zellulären Proteinstoffwechsels verstehen (Siroen et al. 2006 a,b).

## **2.3.2 ADMA-Stoffwechsel**

### **2.3.2.1 DDAH**

#### **2.3.2.1.1 Einteilung der DDAH**

Etwa 13 Jahre bevor Ogawa et al. (1989) das am Abbau von ADMA beteiligte Enzym DDAH identifizieren konnten, postulierte das Forschungsteam um McDermott (1976) zusätzlich zur renalen Ausscheidung auch eine metabolische Prozessierung von ADMA. Heute weiß man, dass von den täglich im menschlichen Körper gebildeten 300 µmol ADMA unter Normalbedingungen mindestens 250 µmol von der DDAH verarbeitet und so inaktiviert werden (Achan et al. 2003).

Es wurden bisher zwei Isoformen der DDAH ausgemacht. Sowohl DDAH-I als auch DDAH-II metabolisieren ADMA und L-NMMA zu L-Citrullin und Dimethylamin, deren Konzentration direkt mit der Aktivität der DDAH korreliert (Ueda et al. 2007).

#### **2.3.2.1.2 Lokalisation der DDAH-Isoformen**

Sowohl DDAH-I als auch DDAH-II sind im menschlichen Körper weit verbreitet und vorwiegend im Zytoplasma der Zellen zu finden. DDAH-I ist in Gehirn, Pankreas, Aorta, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten des Peritoneums vorhanden (Kimoto et al. 1993, Tran et al. 2000). Die höchsten Konzentrationen der DDAH-I konnte man jedoch in Leber und Nieren, den Hauptorganen des ADMA-Metabolismus nachweisen. Die Rolle der Leber als ein ADMA-verstoffwechelndes Organ offenbarten Studien, welche herausfanden, dass Hepatozyten den  $\gamma^+$ -Transporter für basische Aminosäuren (CAT) (Hattori et al. 1999) exprimieren und im Zellinneren große Mengen des ADMA-abbauenden Enzyms DDAH zu finden sind (Kimoto et al. 1993). Die Aufnahme von ADMA, SDMA und L-Arginin über den CAT der Leber wurde in weiteren Studien nachgewiesen (Siroen et al. 2005 a,b).

Im Gegensatz zu DDAH-I wird DDAH-II besonders in fetalem Gewebe exprimiert. Bis zum Erwachsenenalter nehmen die DDAH-II-Level ab und konzentrieren sich auf das vaskuläre, eNOS-haltige Gewebe des Endothels, des Herzens, der Plazenta und der Nieren (Wang et al. 2007). Weiterhin wird DDAH-II in immunologisch aktiven Gewebe-

typen ausgebildet. So findet man in Milz, Thymus, peripheren Leukozyten, Lymphknoten und Knochenmark eine mit der iNOS assoziierte DDAH-II (Tran et al. 2000).

Am Rattenmodell konnte eine hochspezifische Verteilung verschiedener NOS- und DDAH-Isoformen im Bereich der Niere nachgewiesen werden. DDAH-I ist vorwiegend im proximalen Tubulussystem lokalisiert, während DDAH-II vor allem im dicken aufsteigenden Schenkel der Henle-Schleife, in der Makula densa und im distalen Konvolut zu finden ist (Onozato et al. 2008). Diese geordnete Verteilung von NOS und DDAH weist auf eine ortsspezifische Regulation der NO-Synthese hin.

### 2.3.2.1.3 Regulation der DDAH-Aktivität

Die Genexpression der DDAH-Isoformen kann über verschiedene Substanzen reguliert werden. Retinsäure (Achan et al. 2002), Pioglitazone (Stühlinger et al. 2002, Wakino et al. 2005) und Östrogen (Selley 2004) steigern die Genexpression der DDAH-II, während Lipopolysaccharide (LPS) (Nijveldt et al. 2003 a,b,c) und hohe Glukosekonzentrationen die Genexpression der DDAH-II hemmen. Oxidativer Stress, wie ihn NO als Sauerstoffradikal verursacht, hat ebenfalls eine inhibierende Wirkung auf die DDAH-II (Leiper et al. 2002). So kann ein Anstieg von NO durch die Inhibierung der DDAH-II die ADMA-Spiegel heben. Der erhöhte ADMA-Spiegel bewirkt in der Folge eine Hemmung der

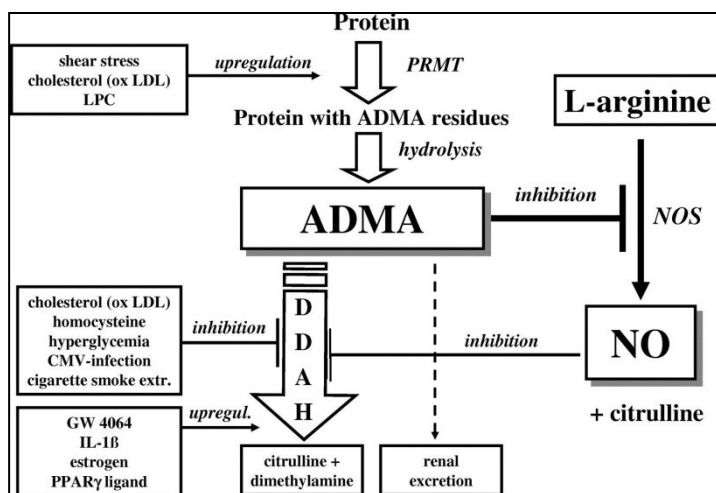


Abbildung 7: Übersicht des ADMA-Stoffwechsels (Kielstein et al. 2001).

NO-Produktion (Kielstein et al. 2001). Hyperglykämie und Hyperhomocysteinämie stellen weitere DDAH-II inhibierende Faktoren dar und führen so sekundär zu einem Anstieg der ADMA-Konzentration (Lin et al. 2002, Stühlinger et al. 2001).

Die DDAH-I Genexpression zeigt sich von anderen Faktoren abhängig. Während ox-LDL und TNF-α die Genexpression hemmen (Ito et al. 1999), verstärkt das proinflammatorische Zytokin IL-1β die Genexpression von DDAH-I (Ueda et al. 2003). Appliziert man LPS als Mediator der akuten Entzündung, so beobachtet man eine signifikant verringerte ADMA-



Konzentration im Blut. Diese Ergebnisse werden auf eine verstärkte Verstoffwechslung von ADMA durch DDAH in der akuten Entzündung zurückgeführt. Des Weiteren besteht die Vermutung, dass ADMA in erhöhtem Maße über den CAT in Zellen transportiert wird, um dort als natürlicher Inhibitor der bei Entzündungen hochaktiven iNOS zu fungieren und so ein unkontrolliertes Ansteigen der NO-Synthese zu verhindern (Cooke 2000). Diese beiden Annahmen wurden untermauert, als Nijveldt et al. (2003 a,b,c) zeigten, dass unter Gabe von LPS Leberzellen verstärkt ADMA in die Zelle aufnehmen.

Experimente an Mäusen legen eine Beteiligung von Zytokinen in der Initiierung der iNOS-Aktivität nahe. Nach Applikation von Zytokinen zeigten sich bei Mäusen bis zu sechsfach erhöhte Konzentrationen von NO. Der durch das Vorhandensein von NO resultierende oxidative Stress inaktiviert wiederum sowohl NOS als auch DDAH (Assreuy et al. 1993, Leiper et al. 2002). Dieser Mechanismus der Inhibierung von NOS und DDAH könnte Teil eines Regelkreises sein, welcher die exzessive Ausschüttung von NO verhindert, indem ADMA durch die Hemmung von DDAH generiert wird. Weitere Studien zu diesem Thema stehen allerdings noch aus.

Die NO-abhängige Hemmung von DDAH lässt sich auf eine Nitrosylierung des Cysteins im aktiven Zentrum des DDAH zurückführen (Leiper et al. 2002). Weiterhin zeigte sich die Nitrosylierung des Cysteins abhängig von der Anwesenheit von Zink im aktiven Zentrum des DDAH. Die Isoformen des DDAH können in zwei Unterformen vorliegen. Einerseits in der sogenannten Holo-Form, welche Zink enthält, andererseits in der Apo-Form, welche keinerlei Zink aufweist. Gow et al. (2002) fanden heraus, dass das von der aktivierten iNOS produzierte NO lediglich eine Inaktivierung der zinkfreien Apo-Form der DDAH bewirkt, während die Holo-Form funktionstüchtig bleibt. Gow et al. (2002) vermuteten aufgrund dieser Beobachtungen ein enges Zusammenspiel von DDAH und NOS, dessen Verbindungsglied der oxidative Stress bildet.

Weitere Substanzen zeigen in Experimenten die Fähigkeit, die Aktivität der DDAH oxidativ zu hemmen. So erzeugen LPS (Xin et al. 2007), Hyperglykämie (Sorrenti et al. 2006), glykosyliertes bovines Serumalbumin (Yin et al. 2007), die Erythropoietinanaloga Epoetin- $\beta$  und Darbepoetin- $\alpha$  (Scalera et al. 2005), ox-LDL (Ito et al. 1999), TNF- $\alpha$  (Ito et al. 1999), Cholesterin (Stühlinger et al. 2001), Homocystein (Stühlinger et al. 2001) und eine Cytomegalievirus-Infektion (Weis et al. 2004) oxidativen Stress und inhibieren so die DDAH.

Probucol (Jiang et al. 2006), Taurin (Tan et al. 2007), Insulin mit Adiponektin (Eid et al. 2007 a,b), Pravastatin (Yin und Xiong 2005), Östradiol (Holden et al. 2003, Monsalve et al. 2007), IL-1 $\beta$  (Ueda et al. 2003) und Pyrrolidin-Dithiocarbamat (Yang et al. 2005) dagegen wirken antioxidativ und regen die Aktivität der DDAH an. Diese Ergebnisse legen eine Steuerung der DDAH über Oxidation und Reduktion nahe.

### **2.3.3 ADMA-Messung**

ADMA besitzt verglichen mit anderen kardiovaskulären Risikofaktoren einen engen physiologischen Konzentrationsbereich (Plasmalevel 0,3-1,0  $\mu\text{mol/l}$ ), weshalb selbst leichte Konzentrationserhöhungen mit einer signifikanten Steigerung des kardiovaskulären Risikos einhergehen (Kawashima 2004). Deshalb ist eine genaue und leicht durchzuführende Nachweismethode unabdingbar.

Die geläufigste Nachweismethode von ADMA in Studien ist die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie. Dieses Verfahren erlaubt zwar eine selektive Messung von ADMA, stellt jedoch durch seine Zeit-, Personal- und Kostenintensität eine für ein eventuelles Screening ungeeignete Methode dar. Zudem zeigte sich, dass eine Massenspektrographie zuverlässigere Ergebnisse liefern kann (Schwedhelm 2005).

Seit einigen Jahren gibt es mit der Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie und dem antikörperbasierten ELISA zwei einfache, günstige und schnelle Verfahren zum selektiven Nachweis von ADMA und SDMA (Schwedhelm et al. 2007, Schulze et al. 2004).

### **2.3.4 Die Wirkung von Dimethylargininen bezogen auf Atherosklerose und Atherosklerose-assoziierte Krankheitsbilder**

#### **2.3.4.1 Atherosklerose**

Das Krankheitsbild der Atherosklerose und eine eventuelle Korrelation zu erhöhten ADMA-Plasmakonzentrationen stehen seit einigen Jahren im Fokus aktueller Studien. Sowohl funktionelle als auch morphologische Veränderungen des Gefäßendothels begünstigen Entzündung, Thrombosierung und Vasokonstriktion und stellen damit einige der zentralen Ursachen der Atherosklerose dar (Vita und Keaney 2002). Die endothelia-

le Dysfunktion steht im Mittelpunkt des atherogenen Geschehens und kann über ein Ungleichgewicht von vasokonstriktiven und -dilatativen und pro- und antikoagulantem Faktoren erklärt werden (Rubanyi 1993).

Die Rolle von ADMA bei der Entstehung von Atherosklerose und endothelialer Dysfunktion ist bis heute nicht vollständig geklärt. Fest steht, dass ADMA eine wichtige Position in der Regulation des NO-Stoffwechsels innehat. Ob erhöhte ADMA-Spiegel nun auslösender Faktor oder Folge einer endothelialen Dysfunktion sind, werden zukünftige Studien zeigen müssen. Eine eingeschränkte DDAH-Aktivität, einhergehend mit erhöhten ADMA-Spiegeln, zeigte in verschiedenen Experimenten allerdings eine eindeutig begünstigende Wirkung auf die Entwicklung einer endothelialen Dysfunktion und könnte so als eine der zentralen Ursachen bei der Entwicklung einer Atherosklerose gesehen werden.

In der Regulation des Gefäßtonus spielt der Einfluss des DDAH auf den NO-Signalweg eine entscheidende Rolle. Durch den Einsatz transgener Mäuse konnte die Vasoaktivität der DDAH nachgewiesen werden. Diese Mäuse zeigten bei Überexpression von DDAH einen starken Abfall des ADMA-Plasmaspiegels und parallel einen Anstieg der NOS-Aktivität. Der systolische Blutdruck stieg im Zuge dieser Veränderungen um durchschnittlich 15 mmHg. Diese Beobachtung konnte durch den Einsatz von S2-Amino-4/3-methylguanidino-Buttersäure (4124W) untermauert werden. Die Aktivität von DDAH lässt sich in Studien mittels 4124W inhibieren. So zeigten sich im Tierversuch nach der Applikation von 4124W deutliche ADMA-Anstiege, einhergehend mit einer messbaren Vasokonstriktion betroffener Gefäße, welche wiederum mittels der Gabe von L-Arginin aufgehoben werden konnte (Dayoub et al. 2003). Bei kompletter Ausschaltung des DDAH-II-Gens konnte eine fast vollständige Hemmung der Vasodilatation durch Acetylcholin erreicht werden. Aufgrund dieser Ergebnisse und der zytosolischen Lokalisation von DDAH-II nahe der eNOS konnte die DDAH-II als eNOS-regulierende Isoform identifiziert werden.

Während Dayoub et al. (2003) eine direkte Korrelation zwischen ADMA-Spiegeln und DDAH -Aktivität herstellen konnten, zeigten andere Studien keine solche Verbindung auf (Pope et al. 2009). Diese Experimente wiesen eher auf eine unterschiedliche Funktionsweise von DDAH-I und DDAH-II hin. So konnte eine Hochdosissubstitution von L-Arginin zwar die vasokonstriktischen Effekte einer fehlenden DDAH-I abmildern, die Effekte einer fehlenden DDAH-II konnten auf diese Weise jedoch nicht rückgängig gemacht werden. Pope et al. (2009) schlossen aus dieser Beobachtung, dass die DDAH-I ihre vasodi-

latatorische Wirkung über die Senkung vorhandener ADMA-Spiegel entfalten könnte, während die DDAH-II ADMA-unabhängig zu einer Vasodilatation zu führen scheint. Eine Kombination aus ADMA-vermittelter und ADMA-unabhängiger Vasokonstriktion ist nach Pope et al. (2009) der wahrscheinlichste Mechanismus für eine endotheliale Dysfunktion. Die mit der endothelialen Dysfunktion einhergehenden ADMA-Anstiege im Plasma sind Pope zur Folge als Ausdruck eines gestörten Methylargininmetabolismus zu sehen (Pope et al. 2009). Diese ADMA-Anstiege inhibieren alle drei Isoformen der NOS gleichermaßen und führen zu einem Entkoppeln der eNOS (Pou et al. 1999, Dayoub et al. 2003).

Neben der direkten Inhibierung der eNOS steht ADMA, zusammen mit SDMA, L-NMMA und L-Arginin, auch im Wettbewerb beim transmembranösen Transport in die endothelialen Zellen und kann so die Aufnahme von L-Arginin, dem Substrat der eNOS, verringern (Closs, et al. 1997). In der Folge kommt es zu einer verminderten Produktion von NO. Das Sauerstoffradikal NO spielt eine übergeordnete Rolle in der Gefäßregulation. Seine vasodilatativen, antikoagulant und antiinflammatorischen Effekte zeigten sich in mehreren Studien als essenziell für die endotheliale Funktion (Ignarro et al. 2001, Buechler et al. 1994). Sinken die endothelialen NO-Spiegel, so führt dies zu Vasokonstriktion, erleichteter Thrombosierung und Inflammation. Für erniedrigte NO-Spiegel können entweder eine verringerte Expression der eNOS, ein Fehlen ihres Substrates L-Arginin und ihrer Co-Faktoren oder veränderte zelluläre Signalwege verantwortlich sein. Diese Ursachen führen zu einer erniedrigten Aktivität der eNOS und einem beschleunigten Abbau von NO durch ROS (Cai und Harrison 2000).

In verschiedenen Experimenten zeigten sich sowohl eNOS als auch DDAH empfindlich gegenüber der oxidativen Einwirkung von ROS. ROS haben die Eigenschaft, die Konzentration von  $BH_4$  zu senken und so die eNOS zu entkoppeln, was eine weitere Produktion von ROS und ein Absinken von NO zur Folge hat. DDAH-I und -II können ebenfalls durch ROS inaktiviert werden, was wiederum in einer ADMA-Steigerung bzw. nach Pope et al. (2009) in einer ADMA-unabhängigen Vasokonstriktion resultiert. Im Zuge der Atherosklerose fällt eine vermehrte intimale Einlagerung von ox-LDL auf. Ox-LDL stellt mit seinen oxidativen Eigenschaften einen Donor von ROS dar und kann auf diesem Wege negativ zur endothelialen Dysfunktion beitragen (Ito et al. 1999).

#### **2.3.4.2 Hypercholesterinämie**

ADMA-Plasmakonzentrationen sind bei Patienten mit einer Hypercholesterinämie erhöht, was auf eine Verbindung von ADMA und Erkrankung schließen lässt. Ratten, die regelmäßig cholesterinreich gefüttert wurden, zeigten signifikante Anstiege in ihrer Blut-ADMA-Konzentration (Yu et al. 1994, Böger et al. 1997, 2004) und entwickelten eine endotheliale Dysfunktion. Auch bei Affen und schließlich beim Menschen konnte man solche Parallelen ziehen (Böger et al. 2000). In einer Probandengruppe asymptomatischer Menschen mit Hypercholesterinämie fanden sich, verglichen mit gesunden Individuen derselben Altersgruppe, doppelt so hohe ADMA-Werte.

Weitere Studien in Bezug auf die Verknüpfung von ADMA und LDL-Cholesterin erbrachten widersprüchliche Ergebnisse. Während Böger et al. (1998) zu dem Schluss kamen, dass ADMA- und LDL-Anstieg miteinander korrelieren, zeigen andere Studien wiederum keinerlei signifikante Verbindung zwischen ADMA und Hypercholesterinämie (Stühlinger et al. 2002). Auch eine Senkung des LDL-Cholesterins mittels einer aggressiven Statinbehandlung hatte keinerlei Einfluss auf vorhandene ADMA-Spiegel (Päivä et al. 2003 a,b, Eid et al. 2003 a,b,c, Sasaki et al. 2002). Ein geringer ADMA-Spiegel hatte jedoch einen positiven Einfluss auf die myokardiale Perfusion bei einer Behandlung mit Pravastatin (Janatuinen et al. 2003).

Zwar konnte keine Korrelation von nativem LDL und ADMA gezeigt werden, die oxidierte Form des LDL spielt jedoch eine zentrale Rolle in der Atherogenese. Ox-LDL ist daher verstärkt in atherosklerotisch veränderten Gefäßwänden zu finden. Kultiviert man Endothelzellen, welche eine endotheliale Dysfunktion aufweisen, so kann man im Kulturmedium einen Anstieg von ADMA nachweisen. Dieser Anstieg beruht auf der Hemmung der DDAH durch das ox-LDL (Ito et al. 1999). Des Weiteren konnte in Versuchen durch Zugabe von ox-LDL eine Hochregulierung von PRMT I Genen nachgewiesen werden. Durch die Hochregulierung dieser Gene kommt es in der Folge zu einer verstärkten Produktion von ADMA und L-NMMA (Osanai et al. 2003).

Der Rezeptor-1 für ox-LDL ist in endothelialen Zellen der hauptsächliche Mediator für die Aufnahme von ox-LDL in Zellen. Es konnte gezeigt werden, dass ADMA zu einer vermehrten Expression dieses Rezeptors führt. Nehmen Endothelzellen im Laufe der Atherogenese ox-LDL auf, so hemmt dieses ox-LDL durch oxidativen Stress die DDAH und die eNOS. Weniger ADMA wird abgebaut und sorgt seinerseits für eine verstärkte

Aufnahme von ox-LDL (Smirnova et al. 2004). Ferner wird weniger NO produziert. Dieser selbstunterhaltende Kreislauf ist als einer der Gründe für die Entstehung einer manifesten Atherosklerose zu sehen.

Zusammenfassend zeigen sich folgende Ergebnisse:

1. Es konnte kein direkter Zusammenhang zwischen ADMA und einer Hypercholesterinämie gefunden werden. Zwar liegen bei Vorhandensein einer Hypercholesterinämie oftmals erhöhte ADMA-Spiegel vor, diese korrelieren aber nicht mit den vorhandenen LDL-Cholesterinspiegeln.
2. Es zeigt sich ein direkter Einfluss von ADMA auf die Aufnahme von ox-LDL in Endothelzellen mit der Folge einer endothelialen Dysfunktion.

Obwohl ADMA und Hypercholesterinämie nicht korrelieren, tragen beide direkt zu der Entstehung atherosklerotischer Läsionen bei. Erhöhte ADMA-Spiegel steigern die Aufnahme von ox-LDL in Endothelzellen, während erhöhte LDL-Spiegel zu einer erhöhten Verfügbarkeit von ox-LDL führen.

### **2.3.4.3 Kardiale (Dys-)Funktion**

Folgeerkrankungen der Atherosklerose wie Herzinfarkt und Schlaganfall gehören zu den häufigsten Todesursachen in Deutschland. Neben etablierten Risikofaktoren wie Nikotinabusus und arterieller Hypertonie spielt auch ADMA eine Rolle in der Pathogenese der kardiovaskulären Erkrankungen.

Kardiale Perfusion, Pumpfunktion und Auswurfleistung weisen in aktuellen Studien eine Verbindung zu vorhandenen ADMA-Spiegeln auf. So konnte für ADMA ein bedeutender Einfluss bei der Perfusionsregulation des linken Ventrikelmyokards nachgewiesen werden (Laussmann et al. 2002). Regionen des Ventrikelmyokards mit geringer Perfusion zeigten eine gesteigerte Expression der DDAH-I und damit geringere ADMA-Konzentrationen, welche bis auf 25 % der ADMA-Konzentration gut durchbluteter Areale zurückgingen. Ausgehend von diesen Ergebnissen beobachtete man bei transgenen Mäusen, welche menschliche DDAH-I ausprägten, verglichen mit ihren normalen Artgenossen, halbierte ADMA-Plasmaspiegel, erhöhte NOS-Aktivität, gesenkte Gefäßwiderstände und erniedrigten Blutdruck. Weiterhin stieg die basale Herzfrequenz um 10 %. Dieses hatte

allerdings keinerlei Effekt auf die Auswurfleistung, da sich gleichzeitig das Schlagvolumen um 10 % verringerte (Dayoub et al. 2003).

Infundiert man gesunden Menschen ADMA, so kann man eine sofortige Erhöhung des Blutdrucks und des peripheren Widerstands feststellen. Ferner fällt die Herzfrequenz zusammen mit der kardialen Auswurfleistung (Kielstein et al. 2004). Untersucht man die Individuen nun auf ihre körperliche Belastungsfähigkeit, so findet man Einschränkungen der Belastungsfähigkeit sowohl in Ruhe als auch unter körperlicher Anstrengung (Achan et al. 2003). In Tiermodellen zeigten sich erhöhte ADMA-Spiegel bei Tieren, welche unter einer dekompensierten Herzinsuffizienz litten (Feng et al. 1998). Auch bei menschlichen Patienten mit Herzinsuffizienz (Kielstein et al. 2003) oder dem kardialen Syndrom X konnten erhöhte ADMA-Konzentrationen nachgewiesen werden (Piatti et al. 2003). Bei Patienten in der Hämodialyse fand man zudem erhöhte ADMA-Spiegel verknüpft mit einer linksventrikulären Dysfunktion und Hypertrophie (Zoccali et al. 2002).

Im Licht dieser Entdeckungen scheint ADMA eine direkte Wirkung auf die Entwicklung einer kardialen Dysfunktion zu haben. Ob vorhandene ADMA-Spiegel als Folge oder Ursache einer solchen Dysfunktion zu sehen sind, bleibt weiterhin zu klären. Denkbar wäre eine Verbindung von ADMA und kardialen Erkrankungen über die Vorerkrankung Atherosklerose. Zusätzlich zu einer direkten kardialen Wirkung spielt ADMA auch bei der Atherogenese eine zentrale Rolle. Atherosklerose ist eine der KHK vorangehende Erkrankung mit einer direkten Verbindung zu kardialen Problematiken wie Angina pectoris, Herzinsuffizienz, oder Herzinfarkt. ADMA kann demnach als wichtiger Faktor der Pathogenese verschiedener kardialer Erkrankungen gesehen werden.

#### **2.3.4.4 Renale Dysfunktion**

Bei Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz wurden erhöhte ADMA-Spiegel das erste Mal von Vallance et al. (1992 a,b) beschrieben. Seitdem deuten verschiedene Studien auf eine Rolle von ADMA in der Pathogenese des chronischen Nierenversagens (CKD) hin (Kielstein et al. 2002, Caglar et al. 2006).

Um die Entstehung erhöhter ADMA-Spiegel bei CKD erklären zu können, stellen Ueda et al. (2010) vier mögliche Pathomechanismen auf:

1. Eine verstärkte Methylierung von Proteinen durch PRMT.
2. Ein verstärkter Umsatz methylierter Proteine.
3. Eine reduzierte DDAH-Aktivität.
4. Eine eingeschränkte renale Ausscheidung von ADMA.

Die Möglichkeit der eingeschränkten renalen Ausscheidung bei CKD konnte widerlegt werden. In Experimenten wurde nachgewiesen, dass ADMA nur zu 5 % über den Urin ausgeschieden wird (McDermott 1976). Weiterhin zeigen Patienten, welche unter einer Nierenfunktionsstörung leiden, trotz gleichzeitig normaler Ausscheidung signifikant erhöhte ADMA-Spiegel (Kielstein et al. 2002). Diese Ergebnisse sprechen gegen eine signifikante Rolle der renalen Ausscheidung in der Entstehung erhöhter ADMA-Spiegel.

Punkt zwei und drei der möglichen Pathomechanismen wurden anhand eines Rattenmodells untersucht. Bei einseitig nephrektomierten Ratten konnte eine deutliche Senkung der Expression von DDAH-I und DDAH-II in Niere und Leber festgestellt werden, während die PRMT-Expression anstieg (Matsuguma et al. 2006). Die Senkung von DDAH und der Anstieg von PRMT könnten diesen Beobachtungen zur Folge die Grundlage eines gesteigerten ADMA-Aufkommens bei einer CKD bilden. Der Auslöser der Hochregulation der PRMT-Genexpression ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Fest steht allerdings, dass oxidativer Stress eine Rolle in diesem Prozess spielt. So konnte gezeigt werden, dass ox-LDL die Genexpression der PRMT hochreguliert (Böger et al. 2000) und CKD-Patienten ein erhöhtes Maß an oxidativem Stress aufweisen (Himmelfarb et al. 2002).

Ein weiterer Mechanismus, welcher ADMA-Spiegel ansteigen lassen könnte, bezieht sich auf die CKD-assoziierte Proteinurie. Dieser Aspekt der renalen Dysfunktion wird meist von zwei Seiten betrachtet. Zum einen gibt es Hinweise, dass ADMA in der Lage ist, die glomeruläre Barriere zu beschädigen und so eine Proteinurie zu induzieren (Sharma et al. 2009, Matsumoto et al. 2007, Shibata et al. 2009). Zum anderen betrachtet man die Proteinurie als möglichen Auslöser erhöhter ADMA-Konzentrationen (Marliss et al. 2006). Es wurde gezeigt, dass bei Eintreten einer Proteinurie auch die ADMA-Spiegel steigen (Caglar et al. 2006, Yilmaz et al. 2008) und bei Nachlassen der Proteinurie durch eine Behandlung mit ACE-Hemmern gleichzeitig eine Reduktion der ADMA-Spiegel zu messen ist (Yilmaz et al. 2007). Ein Grund für die Korrelation von Proteinurie und ADMA-Spiegeln könnte Ueda et al. (2010) zufolge die Lokalisation von DDAH in den Zellen des Tubulussystems sein (Tojo et al. 1997). Der durch die Pro-



teinurie ausgelöste oxidative Stress könnte die DDAH deaktivieren und so zu ansteigenden ADMA-Spiegeln im Blut führen (Leiper et al. 2002).

Hohe ADMA-Plasmaspiegel gehen mit einer schnelleren Progression der CKD einher (Fliser et al. 2005, Ravani et al. 2005). Die renale Hypoxie und die damit einhergehende tubulointerstitielle Fibrose werden als zentrale Faktoren in der Pathogenese der CKD gesehen (Fine et al. 1998, Nangaku 2006). Kürzlich veröffentlichte Experimente konnten die wichtige Rolle erhöhter ADMA-Spiegel bei der Entstehung der renalen Hypoxie nachweisen. Die Hemmung der NOS und die daraus resultierende Verringerung NO-vermittelter Vasodilatation und Vasoproliferation zeigten sich in diesen Studien als auslösende Faktoren der renalen Hypoxie. Der dabei durch die Hemmung der NOS eintretende Verlust von peritubulären Kapillaren beschleunigt die tubulointerstitielle Fibrose und führt so zu einer schnell fortschreitenden Form der CKD (Ueda et al. 2010). Durch eine verstärkte Expression der DDAH gesenkte ADMA-Konzentrationen verbesserten den peritubulären Kapillarfluss und verhinderten so einen weiteren Progress der tubulointerstitiellen Fibrose (Matsumoto et al. 2007).

Zusammenfassend zeigt sich eine Korrelation von ADMA und renaler Erkrankung. Die Nieren bilden eines der für den ADMA-Metabolismus essentiellen Organsysteme. Die Verbesserung von Progression und Symptomatik der CKD bei ADMA-Senkung lässt den Schluss zu, ADMA könnte eine zentrale Rolle in der Pathogenese der CKD spielen. Weitere Studien müssen zeigen, ob ADMA die Ursache oder nur ein Symptom dieser Erkrankung widerspiegelt.

#### **2.3.4.5 Hyperhomocysteinämie**

Hyperhomocysteinämie zählt zu den Risikofaktoren, welche die Atherogenese begünstigen (Ridker et al. 2004), indem sie die LDL-Modifikation beschleunigt, proinflammatorisch wirkt, die Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen fördert, Makrophagen schneller zu Schaumzellen werden lässt, oxidativen Stress verursacht, prothrombotisch wirkt und die endotheliale Dysfunktion verstärkt (Eldibany und Caprini 2007).

Hyperhomocysteinämie verstärkt die endotheliale Dysfunktion mittels verschiedener Mechanismen. So wirkt sich Homocystein negativ auf die Bioverfügbarkeit von NO aus, indem der von Homocystein verursachte oxidative Stress die DDAH inaktiviert und die

eNOS entkoppelt. Statt NO zu synthetisieren, produziert die eNOS nun ROS, welche den oxidativen Stress verstärken und in Verbindung mit NO zu Peroxynitrit reagieren, welches wiederum BH<sub>4</sub> oxidiert und so die Entkopplung der eNOS weiter vorantreibt. Weiterhin steigen durch die Hemmung der DDAH die intrazellulären ADMA-Spiegel, was eine weitere Inhibierung und Entkopplung der eNOS nach sich zieht (Böger et al. 2001, Stühlinger et al. 2001, 2003, Stühlinger und Stanger 2005). Als Folge steigt Tonus und Gefäßwiderstand der lokalen Gefäßmuskulatur.

Homocystein hat zusätzlich zu den genannten atherogenen Mechanismen die Eigenschaft, Proteinfaltungen zu stören (Austin et al. 2004). Diese Funktion führt zu einer erhöhten Instabilität generierter Proteine und so zu einem akzelerierten Proteinabbau. Wird der Abbau methylierter Proteine gesteigert, so kommt es in der Folge zu einem vermehrten Freiwerden von ADMA und erhöhten ADMA-Spiegeln im Blut, gefolgt von den bekannten vasokonstriktorisches Effekten (Stühlinger et al. 2001).

Bei der Synthese ADMA-haltiger Proteine durch die PRMT entstehen bei der Methylierung von Arginin in mehreren Zwischenschritten auch zwei Homocysteinäquivalente, welche ebenfalls zu einer Hyperhomocysteinämie beitragen können. Affenmodelle zeigten bei einer methioninreichen und folatarmen Diät eine Verdreifachung der ADMA- und Homocysteinspiegel (Böger et al. 2000). Bei der Übertragung dieser Versuche auf den Menschen stellte sich ein ähnliches Bild dar. Nach der oralen Gabe von Methionin (100mg/kg) stiegen die Plasmakonzentrationen von ADMA und Homocystein signifikant an, und es zeigte sich eine Einschränkung der Vasodilatation der Brachialarterie um 80 % (Stühlinger et al. 2003, Böger et al. 2001).

Hinweise deuten auf eine zentrale Rolle der homocysteininduzierten Hemmung der DDAH hin. An Mausmodellen konnte unter einer Hyperhomocysteinämie eine verringerte Genexpression der DDAH-I und -II festgestellt werden. Homocystein könnte demnach sowohl Genexpression als auch Aktivität der DDAH negativ beeinflussen und zelluläre ADMA-Spiegel auf diesem Weg in die Höhe treiben (Dayal und Lentz 2005).

Andere Studien konnten wiederum keinerlei Korrelation von ADMA- und Homocysteinspiegeln feststellen (Spoelstra-de Man et al. 2006, Schmitt et al. 2007, Ziegler et al. 2005). So konnte auch im Zuge eines Nierenversagens, einem Auslöser sowohl für ADMA- als auch für Homocysteinanstiege, keine signifikante Korrelation beider Wirkstoffkonzentrationen belegt werden (Zoccali et al. 2001, Kumagai et al. 2006).

Bisherige Ergebnisse lassen eine Verbindung von ADMA und Hyperhomocysteinämie vermuten. Die widersprüchlichen Ergebnisse verschiedener Studien zeigen jedoch, dass noch weitere Forschung auf diesem Gebiet notwendig ist. Zukünftige Studien könnten eventuell die Verbindung zwischen ADMA und Homocystein weiter klären.

#### **2.3.4.6 Diabetes mellitus**

Eine in den Industriestaaten extrem an Körpergewicht zunehmende Bevölkerung stellt die heutige Medizin vor immer neue Herausforderungen. Das metabolische Syndrom, ein erhöhtes Risiko für Herz-Kreislauferkrankungen und eine steigende Prävalenz des durch Adipositas induzierten Diabetes mellitus Typ II stellen nur einige der immer mehr in den Vordergrund tretenden Erkrankungen dar. Wie schon im Vorangegangenen beschrieben, könnte die mit Adipositas einhergehende Hypercholesterinämie die Hemmung der DDAH fördern und so nachfolgend die ADMA-Konzentrationen im Blut erhöhen. Patienten mit Diabetes mellitus weisen zudem ein erhöhtes Risiko mikro- oder makroangiopathischer Komplikationen auf, welche oft mit einer endothelialen Dysfunktion einhergehen (Johnstone et al. 1993). Es lassen sich Daten finden, welche außerdem auf eine Verbindung von erhöhten ADMA-Spiegeln und Insulinresistenz hinweisen (Chan und Chan 2002, Sydow et al. 2005).

Verschiedene Studien belegten das Nebeneinander von Diabetes mellitus und endothelialer Dysfunktion. Im Zuge dieser Studien konnten die bei einer endothelialen Dysfunktion ansteigenden Hämostase- und Entzündungsmarker als unabhängige Prädiktoren eines Diabetes mellitus isoliert und die endotheliale Dysfunktion als Ursache einer verzögerten Glukoseaufnahme insulinsensitiver Gewebe ausgemacht werden (Meigs et al. 2004, 2006, Stranges et al. 2008, Schmidt et al. 1999, Festa et al. 2002, Steinberg et al. 1994, Vincent et al. 2004). Der transendotheliale Transport von Glucose zeigte sich in Hunderversuchen als der zeitlich limitierende Faktor bei der Aufnahme von Insulin in insulinsensitive Zellen. Auf diesem Weg könnte eine endotheliale Dysfunktion die Insulinwirkung verzögern und einen Diabetes mellitus begünstigen (Bergman et al. 1990). Die durch eine endotheliale Dysfunktion hervorgerufene lokale Ischämie wurde in einer weiteren Studie für eine Betazell-Ischämie und eine daraus resultierende Beeinträchtigung der endokrinen Funktion der Betazellen verantwortlich gemacht (Tal 2009).

Es häufen sich Hinweise, dass sowohl Insulin- als auch Glukoseaufnahme im menschlichen Körper über die Ausschüttung von NO reguliert werden und so eventuellen Veränderungen im NO-/ADMA-Stoffwechsel unterliegen (Steinberg et al. 1994).

Von der anderen Seite betrachtet zeigt sich ein erhöhter Glukosespiegel verantwortlich für erhöhte ADMA-Konzentrationen. Bei diabetischen Ratten konnte eine reduzierte Aktivität der DDAH einhergehend mit entsprechend erhöhten ADMA-Plasmaspiegeln nachgewiesen werden (Fujii et al. 2010). Der oxidative Stress, ausgehend von gesteigerten Glukosekonzentrationen, verursachte in den Experimenten von Fuji et al. (2010) eine Hemmung der DDAH und ein Ansteigen der ADMA-Spiegel. Diese Hemmung der DDAH konnte durch die Behandlung mit der antioxidativen Superoxiddismutase rückgängig gemacht werden, was die Rolle des hyperglykämisch induzierten oxidativen Stresses weiter untermauert (Lin et al. 2002). Der oxidative Stress zeichnet sich ebenfalls für die mit Diabetes mellitus einhergehende Nephropathie verantwortlich (Prabhakar et al. 2007). Prabhakar et al. (2007) konnten ein vermindertes eNOS-Aufkommen im renalen Gewebe messen, welches mit erniedrigten NO-Konzentrationen einherging. Diese gesenkten NO-Konzentrationen konnten auf ROS, welche NO zu Peroxynitrit umwandeln können, zurückgeführt werden.

Ferner konnte als ein Hinweis auf eine Verknüpfung von ADMA und Adipositas ein Abfallen der ADMA-Plasmaspiegel unter einer relevanten Gewichtsabnahme beobachtet werden (Krzyzanowska et al. 2004). Adipöse Patienten ohne Insulinresistenz zeigten im Gegensatz zu adipösen Patienten mit Insulinresistenz eine signifikant geringere Erhöhung der ADMA-Konzentrationen (McLaughlin et al. 2006), was die zentrale Rolle der Insulinresistenz im ADMA-Stoffwechsel untermauert. So zeigen Medikamente wie bestimmte Glitazone, welche bei Diabetes mellitus Anwendung finden, wiederholt neben ihrer eigentlichen Wirkung auch einen ADMA-senkenden Effekt (Asagami et al. 2002, Stühlinger et al. 2002, Wakino et al. 2005).

Andere Studien zeigen wiederum ein gänzlich anderes Bild. Komers et al. (1994) beobachteten eine steigende NO-Produktion, verbunden mit einer glomerulären Hyperfiltration im Zuge eines Diabetes mellitus Typ II. Ferner zeigte sich die eNOS in Rinde und Glomerula betroffener Nieren bei nicht-adipösen Diabetes mellitus Typ II-Patienten hochreguliert (Hohenstein et al. 2008).

Diese widersprüchlichen Ergebnisse lassen sich auf verschiedene Art und Weise erklären. So postuliert Fujii et al. (2010) zwei Möglichkeiten:

1. Einerseits könnten die erhöhten NO-Spiegel den hemmenden Effekt von ADMA überwiegen und so der ADMA-induzierten Vasokonstriktion entgegenwirken.
2. Andererseits nimmt Fuji et al. (2010) auf Druhan et al. (2008) Bezug und postuliert, ADMA fördere die Bildung einer ungekoppelten eNOS und hemme zudem die Verbindung der eNOS mit ihrem Substrat. Auf diesem Weg würden mehr ROS entstehen, welche wiederum die NO-Spiegel senken würden.

Weitere Studien unterstützen den zweiten Erklärungsansatz, indem sie eine Verbindung zwischen ADMA und vaskulärem  $O_2^-$ -Vorkommen aufzeigen (Antoniades et al. 2009) oder ein Ungleichgewicht innerhalb der eNOS-Konzentration zugunsten der ungekoppelten Form nachweisen (Satoh et al. 2008). So kann Satoh et al. zufolge die Gesamtkonzentration der eNOS zwar messbar hoch ausfallen, der funktionelle, gekoppelte Anteil aber weit niedriger vorliegen. Weiterhin würde ein stark erhöhter Anteil der ungekoppelten eNOS auch größere Mengen an reaktiven Sauerstoffmolekülen produzieren und so den oxidativen Stress weiter erhöhen. Dieser oxidative Stress könnte laut Shibata et al. (2009) durch eine Verminderung der renalen Durchblutung zu einer tubulointerstitiellen Ischämie mit folgender Fibrose führen und so eine beschleunigte Progression der diabetischen Nephropathie begünstigen.

Zusammenfassend zeichnet sich eine Korrelation von ADMA und Insulin ab. Auch die Beobachtung, dass die Hauptorgane des ADMA-Metabolismus, Leber und Nieren, vermehrt Insulinrezeptoren aufweisen, legt eine zentrale Position des Insulins in Bezug auf die ADMA- und NO-Regulation nahe. Zudem konnten Zusammenhänge zwischen ADMA, DDAH, eNOS und oxidativem Stress in Bezug auf Diabetes mellitus Typ II aufgezeigt werden, welche die Rolle von ADMA beim Diabetes mellitus wahrscheinlich macht.

#### **2.3.4.7 Hepatische Dysfunktion**

In Studien konnte eine Leberbeteiligung bei der Verstoffwechslung von Dimethylargininen nachgewiesen werden. Leber und Nieren weisen ein großes Aufkommen von CAT auf. CAT transportiert ADMA, SDMA und L-Arginin in die Zelle und ermöglicht so den intrazellulären Abbau von ADMA (Closs et al. 1997). Auch das ADMA-abbauende

Enzym DDAH wurde in erhöhtem Maße in Leberzellen nachgewiesen (Ogawa et al 1989, Kimoto et al. 1993). Nijveldt et al. (2003 a,b,c) zeigten in einem Rattenmodell, dass eine gesunde Leber große Mengen an ADMA verstoffwechseln kann. Pro Tag werden von der menschlichen Leber 4135 ( $\pm$ 480) nmol ADMA aufgenommen und abgebaut. Dieser Wert entspricht etwa dem 700-fachen der zirkulierenden ADMA-Konzentration im Blut (Nijveldt et al. 2003 a,b,c).

Patienten, welche unter akutem Leberversagen leiden, weisen verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant erhöhte ADMA-Konzentrationen im Blut auf. Die erhöhten ADMA-Spiegel korrelieren dabei mit dem Grad des Leberversagens und der Konzentration der Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 (Mookerjee et al. 2007). Wird im Zuge des Leberversagens eine Lebertransplantation notwendig, so kann man steigende ADMA-Spiegel in der kalten Perfusionslösung des Transplantats beobachten. Überschreitet die kalte Ischämiezeit die sechs-Stunden-Grenze, so konnte man neben einem Anstieg der ADMA-Konzentration auch eine deutliche Hemmung der eNOS feststellen. Um das Risiko einer Organabstoßung zu verringern, empfehlen Martin-Sanz et al. (2003) die kalte Ischämiezeit von sechs Stunden nicht zu überschreiten.

Auch die ADMA-Spiegel im Blut, gemessen während der Implantation des Spenderorgans korrelieren mit einer eventuellen Organabstoßung. Patienten, welche kurz zuvor eine gespendete Leber erhalten hatten, zeigten nach dem Eingriff signifikant fallende ADMA-Spiegel. Blieb diese Senkung der ADMA-Spiegel im Blut aus, so konnte man in der darauffolgenden Zeit oftmals ein akutes Leberversagen bis hin zur Organabstoßung beobachten. 85 % der Patienten, bei denen das Lebertransplantat abgestoßen wurde, wiesen steigende ADMA-Spiegel vor Beginn der Abstoßung auf (Siroen et al. 2004). Diesen Ergebnissen zufolge könnte ADMA ein potentieller Prädiktor für ein drohendes Transplantatversagen darstellen.

Patienten, welche unter einer alkoholtoxischen Leberzirrhose leiden, zeigen meist erhöhte Plasmakonzentrationen sowohl von ADMA als auch von NO. Dabei weisen Patienten mit einer dekompensierten Leberzirrhose, also einer Leberzirrhose mit systemischen Folgeerscheinungen, wesentlich höhere ADMA- und NO-Spiegel auf als Patienten mit einer kompensierten Leberzirrhose. Lluch et al. (2004) vermuten, dass das ADMA in diesem Fall die überschießende periphere Vasodilatation verhindern soll, die das exzessiv gebildete NO zur Folge haben würde. Des Weiteren konnte beobachtet werden, dass die Nieren im Zuge der dekompensierten Leberzirrhose zur Minderperfusion

neigen. Diese Minderperfusion konnte auf eine gesteigerte renale ADMA-Anreicherung zurückgeführt werden, welche die renale Perfusion negativ beeinflusst (Lluch et al. 2004). Als Folge der renalen Vasokonstriktion kann SDMA nicht mehr in ausreichendem Maße renal ausgeschieden werden. Es reichert sich demnach an und könnte als Marker des hepatorenen Syndroms herangezogen werden (Lluch et al. 2006).

Zusammenfassend zeigt sich:

1. Die Leber ist neben den Nieren das wichtigste Organ des ADMA-Stoffwechsels.
2. Leberfunktionseinschränkungen korrelieren mit einer Erhöhung der ADMA-Spiegel im Blut.
3. Erhöhungen des ADMA-Spiegels nach einer Lebertransplantation lassen auf eine Einschränkung der Leberfunktion schließen.

#### **2.3.4.8 Präeklampsie**

Präeklampsie ist in Westeuropa mit einer Inzidenz von 1:150-1:300 die vierthäufigste perinatale Todesursache von Müttern (Dadak 2009). Zurzeit werden drei Hypothesen der Entstehung der Präeklampsie diskutiert. Alle drei haben gemein, dass von einer eingeschränkten plazentalen Perfusion basierend auf einer endothelialen Dysfunktion ausgegangen wird.

Die erste Hypothese beschreibt eine örtliche Verlagerung von trophoblastären Zellen, welche zu einer Einschränkung des lokalen Blutflusses und schließlich zu einer plazentalen Ischämie führt (Tsukimori et al. 1994, Cross 1996). Die zweite Hypothese geht von einer Häufung von nichtveresterten Fettsäuren im mütterlichen Blut aus. Diese Akkumulation hätte oxidativen Stress und schließlich eine endotheliale Dysfunktion zur Folge (Endresen et al. 1994). Die letzte der drei Hypothesen zur Entstehung der Präeklampsie sieht eine Maladaptation des mütterlichen Immunsystems an die neuen Verhältnisse der Schwangerschaft als Ursache an. Der Kontakt von mütterlichen und fetalen Körperzellen hätte in diesem Fall eine Zytokin- und freie Radikalaussschüttung mit resultierender endothelialer Dysfunktion zur Folge (Redman 1991, Stark 1993, Meekins et al. 1994).

Fickling et al. (1993) gelang es erstmals, eine Verbindung zwischen ADMA-Spiegeln und dem Verlauf einer Schwangerschaft herzustellen. Präeklampsische Frauen, im Vergleich mit Frauen, deren Schwangerschaft normal verlief, zeigten einen signifikanten Anstieg

von ADMA, während die ADMA-Spiegel in einer normal verlaufenden Schwangerschaft zum letzten Trimenon hin eher zu fallen schienen (Williams et al. 1997, Holden et al. 1998, Félétou und Vanhoutte 2006). Dieser Abfall konnte durch eine wechselnde Nierenfunktion in der Schwangerschaft erklärt werden (Siroen et al. 2006 a,b).

In den folgenden Jahren konnten präeklampsische Symptome bei gesunden Probanden durch die Infusion von synthetischen NOS-Inhibitoren ausgelöst werden. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse führten zu der Hypothese, Präeklampsie und das assoziierte HELLP-Syndrom seien Krankheiten, welche auf einem NO-Mangel basierten und welche als ein vasospasmisches Syndrom der Schwangerschaft gesehen werden können (Kobayashi et al. 2001).

Loyaga-Rendon et al. (2005) konnten weiterhin eine Korrelation zwischen intrazellulären ADMA-Konzentrationen und der Intima-Media-Ratio, einem starken Prädiktor der Atherogenese, herstellen. Zudem stellten sie ein erniedrigtes DDAH-Vorkommen bei Patientinnen fest, welche unter einer Präeklampsie litten. Weiterhin zeigten Noris et al. (2004), dass im Gewebe präeklampsischer Frauen ein signifikanter L-Argininmangel vorliegt. Weder L-Arginin noch der für den Transport der Aminosäure in die Zielzellen verantwortliche CAT erreichten die als physiologisch anzusehenden Konzentrationen. Nachdem das ADMA-abbauende Enzym DDAH aus Plazenten isoliert werden konnte (Leiper et al. 1999, Tran et al. 2000), betrachtet man heute die Plazenta neben Nieren und Leber als einen weiteren Ort der intensiven Verstoffwechslung von ADMA (Savvidou et al. 2003).

Siroen et al (2006 a,b) kamen zu einem Ergebnis, welches den eingangs erwähnten Hypothesen zuwider zu laufen scheint. Weder die ADMA-Konzentration in der Plazenta, noch die im Blut präeklampsischer Frauen unterschied sich signifikant von der normotensiver Frauen. Dieses Ergebnis lässt sich nach einem Blick auf die renale und hepatische Funktion der Probanden erklären. Es ließ sich zeigen, dass ein verminderter plazentarer Blutfluss zu renaler Minderperfusion und verringerter glomerulärer Filtrationsrate führt. Der folgende Abfall der Nierenfunktion würde in einem Ansteigen von ADMA resultieren, was wiederum die Leber stärker belasten würde und so eventuell schwerwiegende Komplikationen wie das HELLP-Syndrom erklären könnte (Siroen et al. 2006 a,b).

Zusammenfassend bildet ADMA eine wichtige Stellgröße bei der Adaptation des Uterus an die Erfordernisse der Schwangerschaft. In der frühen Phase der Schwangerschaft



kann eine Anpassung der Stellgrößen ADMA und NO zu einer verbesserten Organperfusion führen und weiterhin die Relaxation des Uterus unterstützen. Zum Ende der Schwangerschaft würde eine weitere Regulation der ADMA- und NO-Spiegel zu einer verbesserten Kontraktionsfähigkeit des Uterus beitragen und so die bevorstehende Geburt vorbereiten. Ein Ungleichgewicht von ADMA und NO kann demnach die Durchblutung des Uterus stören und so zu dem Krankheitsbild der Präeklampsie führen (Böger et al. 2010).

#### **2.3.4.9 ADMA bei Multiorganversagen in der Intensivmedizin**

Schwerkranke Patienten auf der Intensivstation mit einem Versagen von zwei oder mehr Organen weisen regelmäßig signifikant erhöhte ADMA-Plasmaspiegel auf. Zum einen ist dies in einem verstärkten Proteinumsatz begründet, zum anderen in einem verringerten Abbau von ADMA bei geschädigter Leber und/oder Nieren. Der erhöhte Proteinumsatz lässt sich auf die gesteigerte Produktion von akute-Phase-Proteinen und einen hyperkatabolen Status zurückführen. Diesen Beobachtungen zufolge ist ADMA ein unabhängiger Risikofaktor für Leber- und Nierenversagen. Patienten mit erhöhten ADMA-Konzentrationen zeigten ein bis zu 17-fach erhöhtes Mortalitätsrisiko im Vergleich mit intensivmedizinisch betreuten Patienten, welche physiologische ADMA-Plasmaspiegel aufwiesen (Nijveldt et al. 2003).

Diese Steigerung der Mortalität könnte ihre Begründung in der durch ADMA verursachten Hemmung der eNOS haben. Bei signifikanter Hemmung der eNOS könnte es zu einer kritischen Einschränkung der Organperfusion bis hin zum totalen Organversagen kommen (Siroen et al. 2006 a,b).

Bei intensivpflichtigen Patienten hat sich ADMA als der aussagekräftigste Messwert in Bezug auf die Mortalität auf der Intensivstation herausgestellt (Nijveldt et al. 2003). Ein geringer ADMA-Spiegel verringert die Sterblichkeit und verbessert die Lebensqualität von schwerkranken Menschen. Das Versagen von Leber und/oder Nieren scheint im Zuge schwerer Erkrankungen weitreichende Konsequenzen für die Perfusion weiterer Organe zu haben. Damit zeigt sich ADMA als wichtiger Marker für die Prognose intensivpflichtiger Patienten und als möglicher Ansatzpunkt neuer Therapie- oder Diagnoseformen.

### 3 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Im Zentrum der Gesunderhaltung des Gefäßsystems steht das Gas NO, welches durch seinen Radikalcharakter verschiedene Aufgaben im menschlichen Körper erfüllt. Es wird durch die drei Isoformen der NOS hergestellt. eNOS, nNOS und iNOS synthetisieren aus L-Arginin NO und L-Citrullin (Moncada et al. 1989). Während die iNOS eine induzierbare Isoform darstellt, sorgen eNOS und nNOS für einen konstanten NO-Spiegel, welcher für die vom Gefäßendothel ausgehende basale Vasodilatation verantwortlich ist (Rees et al. 1989, Fleming et al. 1997). Dabei nitrosyliert freiwerdendes NO die lösliche Guanylatcyclase glatter Muskelzellen der Gefäßwand, was wiederum zu einer Akkumulation von cGMP und einer Relaxation der Muskelzelle führt (Denninger und Marletta 1999). Zusätzlich zu der vasodilatativen Wirkung weist NO auch einen hemmenden Einfluss auf die Thrombozytenaggregation, eine Proliferationshemmung glatter Muskelzellen und eine Rolle in der Signaltransduktion nicht-adrenerger, nicht-cholinergener Nervenzellen auf. ADMA und ROS zeigten sich in verschiedenen Experimenten als potente Inhibitoren der NOS (Vallance et al. 1992 a,b, Moncada 2005). Oxidativer Stress stellt einen wesentlichen Mechanismus der NOS-Hemmung dar und kann sogar von der NOS selbst produziert werden. Fehlt der NOS der Kofaktor BH<sub>4</sub>, so entkoppelt die NOS und produziert statt NO ROS, welche die NOS selbst in ihrer Aktivität hemmen.

L-Arginin verdrängt ADMA kompetitiv von der NOS und kann so eine vorliegende Hemmung durch ADMA verringern (Böger und Bode-Böger 2001). Des Weiteren besitzt L-Arginin antioxidative Eigenschaften und kann ebenfalls zu einer Senkung des oxidativen Stresses beitragen (Sydow et al. 2003).

Unter L-Argininsubstitution konnten eine endothelabhängige Vasodilatation, eine Hemmung der Thrombozytenaggregation, ein gesteigertes NO-Vorkommen und eine reduzierte Plaquebildung beobachtet werden (Böger et al. 1997). Diese Wirkung von L-Arginin zeigte sich jedoch dosisabhängig. Um die beschriebene Wirkung zu erzielen, musste die hohe Dosis von mindestens 21 g pro Tag über drei Tage verabreicht werden. Bei geringeren Dosen zeigte sich keine signifikante Vasodilatation, Thrombozytenaggregationshemmung und keine gesteigerten NO-Spiegel (Adams et al. 1997, Blum et al. 2000). Andere Studien ergaben unabhängig von der Dosis überhaupt keinen Vorteil durch die Substitution von L-Arginin und mussten teilweise auf Grund von L-Arginin-

assoziierter erhöhter Mortalität sogar vorzeitig abgebrochen werden (Schulman et al. 2006, Preli et al. 2002).

Patienten, welche unter einer Atherosklerose leiden, weisen häufig erhöhte ADMA-Spiegel auf. Weiterhin konnten neben einem erhöhten ADMA-Spiegel auch erhöhte ROS-Aufkommen und erniedrigte DDAH-Spiegel im Zuge einer Atherosklerose nachgewiesen werden. Jedoch konnte keinerlei Beweis erbracht werden, dass ADMA ein Atherosklerose-verursachendes Agens darstellt. Ebenso zeigt die Hypercholesterinämie keine eindeutige Korrelation mit erhöhten ADMA-Spiegeln, wohl aber eine Erhöhung des ox-LDL-Vorkommens. ADMA begünstigt die Aufnahme von ox-LDL, welches seinerseits oxidative Eigenschaften vorweist. Dieser oxidative Charakter verstärkt die Bildung von ROS und so eine endotheliale Dysfunktion.

Betrachtet man kardiale Erkrankungen wie KHK, Herzinfarkt oder Herzinsuffizienz, so ist eine eindeutig pathogene Wirkung hoher ADMA-Konzentrationen auszumachen. So verschlechtern sich die kardiale Blutverteilung und Funktion in Experimenten unter der Gabe von ADMA. Des Weiteren spielt die Atherosklerose eine wichtige Rolle in der Entstehung ischämischer Erkrankungen wie der KHK. Die bei der Atherosklerose auftretende endotheliale Dysfunktion, verbunden mit erhöhten ADMA-Spiegeln, nimmt demnach eine zentrale Position in der Pathogenese kardialer Erkrankungen ein.

Auch bei der chronischen Niereninsuffizienz stellt sich ADMA als ein wichtiger pathogener Faktor dar. So konnte durch eine ADMA-Senkung eine direkt mit der Senkung korrelierende Verbesserung der Nierenfunktion erreicht werden.

Eine bestehende Hyperhomocysteinämie erhöht vorhandene ADMA-Spiegel, verursacht eine endotheliale Dysfunktion und hemmt den Abbau von ADMA durch DDAH. Eine direkte Korrelation von ADMA und Homocystein ist bisher noch nicht nachgewiesen worden.

Bei Diabetes mellitus zeigte sich der oxidative Stress einer Hyperglykämie als auslösender Faktor einer DDAH- und NOS-Hemmung.

Die Leber zeigt als ADMA-verstoffwechselndes Organ eindeutige Erhöhungen der ADMA-Spiegel bei einer hepatischen Dysfunktion, was ADMA zu einem guten Marker der Leberfunktion, z. B. nach einer Lebertransplantation, machen könnte (Siroen et al. 2004).

Auch in der Pathogenese der Präeklampsie spielt ADMA eine zentrale Rolle (Böger et al. 2010). Studien belegen, dass ADMA in physiologischen Konzentrationen zu einer Adaptation des Uterus an die neuen Erfordernisse einer Schwangerschaft beiträgt. Gerät das Verhältnis von NO und ADMA ins Ungleichgewicht, so könnte dieses Ungleichgewicht die Entstehung einer Präeklampsie erklären.

In der Intensivmedizin konnten erhöhte ADMA-Spiegel mit einer erhöhten Sterblichkeit durch Multiorganversagen in Verbindung gebracht werden. ADMA stellt einen wichtigen Prädiktor für Prognose und Mortalität schwerkranker Menschen dar (Nijveldt et al. 2003 a,b,c).

Zusammenfassend lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

- 1 Erhöhte ADMA-Spiegel zeigen eine pathologische Veränderung im Zuge von Atherosklerose, kardialen Erkrankungen, Diabetes mellitus, CKD, Präeklampsie, Hyperhomocysteinämie und Leberversagen an.
- 2 ROS bilden ein zentrales Bindeglied im NO-/ADMA-Stoffwechsel.
- 3 Oxidantien und Antioxidantien haben eine direkte Wirkung auf NO-/ADMA-assoziierte Krankheiten.

## 4 Literaturverzeichnis

Achan, V., C. T. Tran, F. Arrigoni, G. S. Whitley, J. M. Leiper. All-transretinoic acid increases nitric oxide synthesis by endothelial cells: a role for the induction of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ. Res.* 2002; 90: 764-769.

Achan, V., M. Broadhead, M. Malaki, G. Whitley, J. Leiper. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 1455-1459.

Adams, M. R., C. J. Forsyth, W. Jessup, J. Robinson, D. S. Celermajer. Oral L-arginine inhibits platelet aggregation but does not enhance endothelium-dependent dilation in healthy young men. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995; 26: 1054-1061.

Adams, M. R., R. McCredie, W. Jessup, J. Robinson, D. Sullivan, D. S. Celermajer. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilatation and reduces monocyte adhesion to endothelial cells in young men with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 1997; 129: 261-269.

Anderson, T. J., I. T. Meredith, A. C. Yeung, B. Frei, A. P. Selwyn, P. Ganz. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 488-493.

Anthony, S., J. Leiper, P. Vallance. Endogenous production of nitric oxide synthase inhibitors. *Vasc. Med.*, 2005; 10: S3-S9.

Antoniades, C., C. Shirodaria, P. Leeson, A. Antonopoulos, N. Warrick, T. Van-Assche, C. Cunnington, D. Tousoulis, R. Pillai, C. Ranatunga, C. Stefanadis, K. M. Channon. Association of plasma asymmetrical dimethylarginine (ADMA) with elevated vascular superoxide production and endothelial nitric oxide synthase uncoupling: implications for endothelial function in human atherosclerosis. *Eur. Heart J.*, 2009; 30: 1142-1150.

Asagami, T., F. Abbasi, M. Stuelinger, C. Lamendola, T. McLaughlin. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002; 51: 843-846.

Assmann, G. *Lipidstoffwechsel und Atherosklerose*. Stuttgart: Schattauer Verlag, 1982.

Assreuy, J., F. Q. Cunha, F. Y. Liew, S. Moncada. Feedback inhibition of nitric oxide synthase activity by nitric oxide. *Br. J. Pharmacol.* 1993; 108: 833-837.

Austin, R. C., S. R. Lentz, G. H. Werstuck. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Diff.* 2004; 11: 56-64.

Bergman, R. N., Y. J. Yang, I. D. Hope, M. Ader. The role of the transcapillary insulin transport in the efficiency of insulin action: studies with glucose clamps and the minimal model. *Horm. Metab. Res.* 1990; 24: 49-56.

Blum, A., L. Hathaway, R. Mincemoyer, W. H. Schenke, M. Kirby, G. Csako, M. A. Waclawiw, J. A. Panza, R. O. Cannon. Oral L-arginine in patients with coronary artery disease on medical management. *Circulation* 2000; 101: 2160-2164.

Bode-Böger, S. M., R. H. Böger, H. Alfke, D. Heinzl, D. Tsikas, A. Creutzig, K. Alexander, J. C. Frölich. L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. A randomized, controlled study. *Circulation* 1996; 93: 85-90.

Bode-Böger, S. M., R. H. Böger, A. Creutzig, D. Tsikas, F. M. Gutzki, K. Alexander, J. C. Frölich. L-arginine infusion decreases peripheral arterial resistance and inhibits platelet aggregation in healthy subjects. *Clin. Sci.* 1994; 87: 303-310.

Bode-Böger, S. M., J. Muke, A. Surdacki, G. Brabant, R. H. Böger, J. C. Frölich. Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years. *Vasc. Med.* 2003; 8: 77-81.

Bode-Böger, S. M., R. H. Böger, A. Galland, D. Tsikas, J. C. Frölich. L-arginine-induced vasodilation in healthy humans: pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1998; 46: 489-497.

Bode-Böger, S. M., R. H. Böger, M. Löffler, D. Tsikas, G. Brabant, J. C. Frölich. L-arginine stimulates NO-dependent vasodilation in healthy humans - effect of somatostatin pretreatment. *J. Invest. Med.* 1999; 47: 43-50.

Böger, R. H., A. Diemert, E. Schwedhelm, N. Lüneburg, R. Maas, K. Hecher. The role of nitric oxide synthase inhibition by asymmetric dimethylarginine in the pathophysiology of preeclampsia. *Gyn. Obs. Invest.* 2010; 69: 1-13.

Böger, R. H., D. Tsikas, S. M. Bode-Böger, L. Phivthong-ngam, E. Schwedhelm. Hypercholesterolemia impairs basal nitric oxide synthase turnover rate: a study

investigating the conversion of L-(guanidino-(15)N(2))-arginine to (15)N-labeled nitrate by gas chromatography-mass spectrometry. *Nitric Oxide* 2004; 11: 1-8.

Böger, R. H., K. Sydow, J. Borlak, T. Thum, H. Lenzen, B. Schubert, D. Tsikas, S. M. Bode-Böger. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ. Res.* 2000; 87: 99-105.

Böger, R. H., S. M. Bode-Böger, A. Szuba, P. S. Tsao, J. R. Chan. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842-1847.

Böger, R. H., S. M. Bode-Böger, K. Sydow, D. D. Heistad, S. R. Lentz. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e)inemia or hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 1557-1564.

Böger, R. H., S. M. Bode-Böger, R. P. Brandes, L. Phivthong-ngam, M. Böhme. Dietary L-arginine reduces the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: comparison with lovastatin. *Circulation* 1997; 96: 1282-1290.

Böger, R. H., S. R. Lentz, S. M. Bode-Böger, H. R. Knapp, W. G. Haynes. Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clin. Sci.* 2001; 100: 161-167.

Böger, R. H., S. M. Bode-Böger. The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001; 41: 79-99.

Boulanger, C., T. F. Lüscher. Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J. Clin. Invest.* 1990; 85: 587-590.

Buechler, W. A., K. Ivanova, G. Wolfram, C. Drummer, J. M. Heim, R. Gerzer. Soluble guanylyl cyclase and platelet function. *Ann. NY Acad. Sci.* 1994; 714: 151-157.

Caglar K., M. I. Yilmaz, A. Sonmez, E. Cakir, A. Kaya, C. Acikel, T. Eyileten, M. Yenicesu, Y. Oguz, C. Bilgi, C. Oktenli, A. Vural, C. Zoccali. ADMA, proteinuria, and insulin resistance in non-diabetic stage I chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2006; 70: 781-787.

Cai, H., D. G. Harrison. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.* 2000; 87: 840-844.

- Campbell, J. H., G. R. Campbell. Biology of the vessel wall and atherosclerosis. Clin. Exp. Hyper-Theory and Practice 1989; 11: 901-913.
- Castillo, L., A. Ajami, S. Branch. Plasma arginine kinetics in adult man: response to an arginine-free diet. Metabolism 1994; 43: 114-122.
- Castillo, L., T. E. Chapman, M. Sanchez. Plasma arginine and citrulline kinetics in adults given adequate and arginine-free diets. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993; 90: 7749-7753.
- Ceremuzynski, L., T. Chamiec, K. Herbaczynska-Cedro. Effect of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. Am. J. Cardiol. 1997; 80: 331-333.
- Chan, N. N., J. C. Chan. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? Diabetologia 2002; 45: 1609-1616.
- Chiang P. K., R. K. Gordon, J. Tal, G. C. Zeng, B. P. Doctor, K. Pardhasaradhi, P. P. McCann. S-Adenosylmethionine and methylation. FASEB J. 1996; 10: 471-480.
- Clarkson, P., M. R. Adams, A. J. Powe. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. J. Clin. Invest. 1996; 97: 1989-1994.
- Closs, E. I., F. Z. Basha, A. Habermeier, U. Förstermann. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y<sup>+</sup> carrier hCAT-2B. Nitric Oxide 1997; 1: 65-73.
- Cooke, J. P. Does ADMA cause endothelial dysfunction? Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2000; 20: 2032-2037.
- Cooke, J. P., V. J. Dzau. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. Annu. Rev. Med. 1997; 48: 489-509.
- Cosentino, F., T. F. Lüscher. Tetrahydrobiopterin and endothelial function. Eur. Heart J. 1998; Suppl. G: G3-G8.
- Cross, J. C. Trophoblast function in normal and preeclamptic pregnancy. Fetal Matern. Med. Rev. 1996; 8: 57-66.
- Dadak, C. Schwangerschafts-Hypertonie. 11. März 2009. <http://schwangerschafts-hypertonie.universimed.com/> (Zugriff am 5. Dezember 2010).



- Dayal, S., S. R. Lentz. ADMA and hyperhomocysteinemia. *Vasc. Med.* 2005; Suppl. 1: 27-33.
- Dayoub, H., V. Achan, S. Adimoolam, J. Jacobi, M. C. Stühlinger. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis. Genetic and physiological evidence. *Circulation* 2003; 108: 3042-3047.
- Denninger, J. W., M. A. Marletta. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1411: 334-350.
- Dieterich, P. Stickstoffmonoxid (NO) und Sauerstoffradikale (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH). 31. Juli 2008. [http://tu-dresden.de/die\\_tu\\_dresden/fakultaeten/medizinische\\_fakultaet/inst/phy/forschung/deussen/techniques/noros](http://tu-dresden.de/die_tu_dresden/fakultaeten/medizinische_fakultaet/inst/phy/forschung/deussen/techniques/noros) (Zugriff am 3. November 2010).
- Druhan, L. J., S. P. Forbes, A. J. Pope, C. A. Chen, J. L. Zweier, A. J. Cardounel. Regulation of eNOS-derived superoxide by endogenous methylarginines. *Biochemistry* 2008; 47: 7256-7263.
- Eid, H. M., J. Eritsland, J. Larsen, H. Arnesen, I. Seljeflot. Increased levels of asymmetric dimethylarginine in populations at risk for atherosclerotic disease. Effects of pravastatin. *Atherosclerosis* 2003; 166: 279-284.
- Eid, H. M., H. Reims, H. Arnesen, S. E. Kjeldsen, T. Lyberg, I. Seljeflot. Decreased levels of asymmetric dimethylarginine during acute hyperinsulinemia. *Metabolism* 2007 a; 56: 464-469.
- Eid, H. M., T. Lyberg, H. Arnesen, I. Seljeflot. Insulin and adiponectin inhibit the TNF $\alpha$ -induced ADMA accumulation in human endothelial cells. The role of DDAH. *Atherosclerosis* 2007 b; 194: e1-e8.
- Eldibany, M. M., J. A. Caprini. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2007; 131: 872-884.
- Endresen, M. J., E. Tosti, H. Heimli, B. Lorentzen, T. Henriksen. Effects of free fatty acids found increased in women who develop preeclampsia on the ability of endothelial cells to produce prostacyclin, cGMP and inhibit platelet aggregation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1994; 54: 549-557.

- Fauci A. S., E. Braunwald, D. L. Kasper, S. L. Hauser, D. L. Longo, J. L. Jameson, J. Loscalzo. *Harrisons Innere Medizin*. Herausgeber: M. Dietel, N. Suttorp, M. Zeitz. Bd. II. II Bde. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag, 2008.
- Féletou, M., P. M. Vanhoutte. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder. *Am. J. Physiol.* 2006; 291: H985-H1002.
- Feng, Q., X. Lu, A. J. Fortin, A. Pettersson, T. Hedner. Elevation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in experimental congestive heart failure. *Cardiovasc. Res.* 1998; 37: 667-675.
- Festa, A., R. D'Agostino, R. P. Tracy, S. M. Haffner. Insulin Resistance Atherosclerosis Study - Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002; 51: 1131-1137.
- Fickling, S. A., D. Williams, P. Vallance, S. S. Nussey, G. S. Whitley. Plasma concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Lancet* 1993; 342: 242-243.
- Fine, L. G., C. Orphanides, J. T. Norman. Progressive renal disease: the chronic hypoxia hypothesis. *Kidney Int. Suppl.* 1998; 65: S74-S78.
- Finocchietto P. V., M. C. Franco, S. Holod, A. S. Gonzalez, D. P. Converso, V. G. Antico Arciuch, M. P. Serra, J. J. Poderoso, M. C. Carreras. Mitochondrial nitric oxide synthase: a masterpiece of metabolic adaptation, cell growth, transformation, and death. *Exp. Biol. Med.* 2009; 234: 1020-1028.
- Fleming, I., J. Bauersachs, R. Busse. Calcium-dependent and calcium-independent activation of the endothelial NO synthase. *J. Vasc. Res.* 1997; 34: 165-174.
- Fliser, D., F. Kronenberg, J. T. Kielstein, C. Morath, S. M. Bode-Böger. Asymmetric dimethylarginine and progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease study. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16: 2456-2461.
- Förstermann, U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Eur. J. Physiol.* 6 2010; 459: 923-939.

Fujii H., K. Kono, K. Nakai, S. Goto, H. Komaba, Y. Hamada, M. Shinohara, R. Kitazawa, S. Kitazawa, M. Fukagawa. Oxidative and nitrosative stress and progression of diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Am. J. Nephrol.* 2010; 31: 342-352.

Fukuto, J. M. Chemistry of nitric oxide: biologically relevant aspects. *Adv. Pharmacol.* 1995; 34: 1-15.

Furchgott, R. F. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite: the basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. New York: Raven Press, 1988.

Furchgott, R. F., J. V. Zawadzki. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.

Fuster, V., L. Badimon, J. J. Badimon, J. H. Chesebro. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* 1992; 326: 242-250.

Gary, J. D., W. J. Lin, M. C. Yang, H. R. Herschman, S. Clarke. The predominant protein-arginine methyltransferase from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 12585-12594.

Gasper, S., Evaluation der Effekte des endogenen NO-Synthase-Inhibitors Asymmetrisches Di-Methylarginin (ADMA) auf die zerebrale Perfusion und die arterielle Compliance bei gesunden Probanden: eine doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studie. Doktorarbeit, Nephrologie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, 2006.

Gerok, W., C. Huber, T. Meinertz. Die Innere Medizin - Referenzwerk für den Facharzt. Herausgeber: Henning Zeidler. Stuttgart: Schattauer Verlag, 2007.

Gow, A. J., Q. Chen, D. T. Hess, B. J. Day, H. Ischiropoulos, J. S. Stamler. Basal and stimulated protein S-nitrosylation in multiple cell types and tissues. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 9637-9640.

Greenacre, S. A., H. Ischiropoulos. Tyrosine nitration: local, quantification, consequences for protein function and signal transduction. *Free Radic. Res.* 2001; 34: 541-581.

Hattori, Y., K. Kasai, S. S. Gross. Cationic amino acid transporter gene expression in cultured vascular smooth muscle cells and in rats. *Am. J. Physiol.* 1999; 276: H2020-2028.

- Heitzer, T., K. Krohn, S. Albers, T. Meinertz. Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation by increasing nitric oxide activity in patients with type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000; 43: 1435-1438.
- Higashi, Y., S. Sasaki, K. Nakagawa, Y. Fukuda, H. Matsuura, T. Oshima, K. Chayama. Tetrahydrobiopterin enhances forearm vascular response to acetylcholine in both normotensive and hypertensive individuals. *Am. J. Hypertens.* 2002; 15: 326-332.
- Himmelfarb, J., P. Stenvinkel, T. A. Ikizler, R. M. Hakim. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.* 2002; 62: 1524-1538.
- Hohenstein, B., C. P. Hugo, B. Hausknecht, K. P. Boehmer, R. H. Riess, R. E. Schmieder. Analysis of NO-synthase expression and clinical risk factors in human diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2008; 23: 1346-1354.
- Holden, D. P., J. E. Cartwright, S. S. Nussey, G. Whitley. Estrogen stimulates dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and the metabolism of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2003; 108: 1575-1580.
- Holden, D. P., S. A. Fickling, G. S. J. Whitley, S. S. Nussey. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998; 178: 551-556.
- Homer, K. L., J. C. Wanstall. Inhibition of rat platelet aggregation by the diazeniumdiolate nitric oxide donor MAHMA NONOate. *Br. J. Pharmacol.* 2002; 137: 1071-1081.
- Hornig, B., N. Arakawa, R. H. Böger, S. M. Bode-Böger, J. C. Frölich. Plasma levels of ADMA are increased and inversely related to endothelium-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure: a new predictor of endothelial dysfunction. *Circulation* 1998; 98: I-318.
- Ignarro, L. J., G. M. Buga, L. H. Wei, P. M. Bauer, G. Wu, P. del Soldato. Role of the arginine-nitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98: 4202-4208.
- Ito, A., P. S. Tsao, S. Adimoolam, M. Kimoto, T. Ogawa. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999; 99: 3092-3095.

Jaffrey, S. R., S. H. Snyder. Nitric oxide: a neural messenger. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 1995; 11: 417-440.

Janatuinen, T., J Laakso, R. Laaksonen, R. Vesalainen, P. Nuutila. Plasma asymmetric dimethylarginine modifies the effect of pravastatin on myocardial blood flow in young adults. *Vasc. Med.* 2003; 8: 185-189.

Jiang, J. L., X. H. Zhang, N. S. Li, W. Q. Rang, Feng-Ye, C. P. Hu, Y. J. Li, H. W. Deng. Probuco decreases asymmetrical dimethylarginine level by alternation of protein arginine methyltransferase I and dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2006; 20: 281-294.

Johnstone, M. T., S. J. Creager, K. M. Scales, J. A. Cusco, B. K. Lee, M. A. Creager. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 88: 2510-2516.

Junqueira, L. C. U., J. Carneiro. *Histologie*. Herausgeber: Manfred Gratzl. München: Springer Verlag, 2005.

Kawashima, S. Malfunction of vascular control in lifestyle-related diseases: endothelial nitric oxide (NO) synthase/NO system in atherosclerosis. *J. Pharmacol. Sci.* 2004; 96: 411-419.

Kielstein, J. T., B. Impraim, S. Simmel, S. M. Bode-Böger, D. Tsikas. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004; 109: 172-177.

Kielstein, J. T., R. H. Böger, S. M. Bode-Böger, J. C. Frölich, H. Haller, E. Ritz, D. Fliser. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 170-176.

Kielstein, J. T., J. C. Frölich, H. Haller, D. Fliser. ADMA (asymmetric dimethylarginine): an atherosclerotic disease mediating agent in patients with renal disease. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2001; 16: 1742-1745.

Kielstein, J. T., S. M. Bode-Böger, G. Klein, S. Graf, H. Haller. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors and renal perfusion in patients with heart failure. *Eur. J. Clin. Invest.* 2003; 30: 370-375.

Kimoto, M., G. S. Whitley, H. Tsuji, T. Ogawa. Detection of NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase in human tissues using a monoclonal antibody. *J. Biochem.* 1995; 117: 237-238.

Kimoto, M., H. Tsuji, T. Ogawa, K. Sasaoka. Detection of NG, NG-dimethyl-arginine dimethylaminohydrolase in the nitric oxide-generating systems of rats using mononuclear antibody. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993; 300: 657-662.

Kiowski, W., T. F. Lüscher, L. Linder, F. R. Buhler. Endothelin-1-induced vasoconstriction in humans. Reversal by calcium channel blockade but not by nitrovasodilators or endothelium-derived relaxing factor. *Circulation* 1991; 83: 469-475.

Kobayashi, T., N. Tokunaga, H. Isoda, N. Kanayama, T. Terao. Vasospasms are characteristic in cases with eclampsia/preeclampsia and HELLP syndrome: proposal of an angiospastic syndrome of pregnancy. *Sem. Thromb. Hemost.* 2001; 27: 131-135.

Komers, R., T. J. Allen, M. E. Cooper. „Role of endothelium-derived nitric oxide in the pathogenesis of the renal hemodynamic changes of experimental diabetes.“ *Diabetes*, 1994: 1190-1197.

Krzyzanowska, K., F. Mittermayer, H. P. Kopp, M. Wolzt, G. Schernthaner. Weight loss reduces circulating asymmetrical dimethylarginine concentrations in morbidly obese women. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 2004; 43: 6277-6281.

Kumagai, H., M. Sakurai, T. Takita, Y. Maruyama, S. Uno, N. Ikegaya, A. Kato, A. Hishida. Association of homocysteine and asymmetric dimethylarginine with atherosclerosis and cardiovascular events in maintenance hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 2006; 89: 797-805.

Laussmann, T., R. A. Janosi, C.D. Fingas, G. R. Schlieper, W. Schlack. Myocardial proteome analysis reveals reduced NOS inhibition and enhanced glycolytic capacity in areas of low local blood flow. *FASEB J.* 2002; 16: 628-630.

Leiper, J. M., M. J. Santa, A. Chubb, R. J. MacAllister, I. G. Charles. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem. J.* 1999; 343: 209-214.

Leiper, J., J. Murray-Rust, N. McDonald, P. Vallance. S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric

oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 13527-13532.

Lerman, A., J. C. Jr Burnett, S. T. Higano, L. J. McKinley, D. R. Jr Holmes. Long term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation* 1998; 97: 2123-2128.

Lewington, S., R. Clarke, N. Qizilbash, R. Peto, R. Collins. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360: 1903-1913.

Lin, K. Y., A. Ito, T. Asagami, P. S. Tsao, S. Adimoolam. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 2002; 106: 987-992.

Lluch, P., B. Torondel, P. Medina, G. Segarra, J. A. Del Olmo. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. *J. Hepat.* 2004; 41: 55-59.

Lluch, P., M. D. Mauricio, J. M. Vila, G. Segarra, P. Medina, J. A. Del Olmo, J. M. Rodrigo, M. A. Serra. Accumulation of symmetric dimethylarginine in hepatorenal syndrome. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* 2006; 231: 70-75.

Loyaga-Rendon, R. Y., S. Sakamoto, M. Beppu, T. Aso, M. Ishizaka, R. Takahashi, T. Azuma. Accumulated endogenous nitric oxide synthase inhibitors, enhanced arginase activity, attenuated dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and intimal hyperplasia in premenopausal human uterine arteries. *Atherosclerosis* 2005; 178: 231-239.

Marliss, E. B., S. Chevalier, R. Gougeon, J. A. Morais, M. Lamarche, O. A. Adegoke, G. Wu. Elevations of plasma methylarginines in obesity and ageing are related to insulin sensitivity and rates of protein turnover. *Diabetologia* 2006; 49: 351-359.

Martín-Sanz, P., L. Olmedilla, E. Dulin, M. Casado, N. A. Callejas, J. Pérez-Peña, I. Garutti, J. Sanz, J. Calleja, S. Barrigón, L. Boscá. Presence of methylated arginine derivatives in orthotopic human liver transplantation: relevance for liver function. *Liver Transpl.* 2003; 9: 40-48.

Matsuguma, K., S. Ueda, S. Yamagishi, Y. Matsumoto, U. Kaneyuki, R. Shibata, T. Fujimura, H. Matsuoka, M. Kimoto, S. Kato, T. Imaizumi, S. Okuda. Molecular

mechanism for elevation of asymmetric dimethylarginine and its role for hypertension in chronic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 2176-2183.

Matsumoto, Y., S. Ueda, S. Yamagishi, K. Matsuguma, R. Shibata, K. Fukami, H. Matsuoka, T. Imaizumi, S. Okuda. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase prevents progression of renal dysfunction by inhibiting loss of peritubular capillaries and tubulointerstitial fibrosis in a rat model of chronic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 18: 1525-1533.

McBride, A. E., P. A. Silver. State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell* 2001; 106: 5-8.

McDermott, J. R. Studies on the catabolism of Ng-methylarginine, Ng, Ng-dimethylarginine and Ng, Ng-dimethylarginine in the rabbit. *Biochem. J.* 1976; 154: 179-184.

McLaughlin, T., M. Stühlinger, C. Lamendola, F. Abbasi, J. Bialek, G. M. Reaven, P. S. Tsao. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations are elevated in obese insulin-resistant women and fall with weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006; 91: 1896-1900.

Meekins, J. W., P. J. McLaughlin, D. C. West, I. R. MacFayden, P. M. Johnson. Endothelial cell activation by tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and the development of preeclampsia. *Clin. Exp. Immunol.* 1994; 98: 110-114.

Meigs, J. B., C. J. O'donnell, G. H. Tofler, E. J. Benjamin, C. S. Fox, I. Lipinska, D. M. Nathan, L. M. Sullivan, R. B. D'Agostino, P. W. Wilson. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2006; 55: 530-537.

Meigs, J. B., F. B. Hu, N. Rifai, J. E. Manson. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2004; 291: 1978-1986.

Moncada, S. Adventures in vascular biology: a tale of two mediators. *Phil. Transact. Roy. Soc. Br.*, 2005; 361.

Moncada, S., R. M. J. Palmer, E. A. Higgs. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem. Pharmacol.* 1989; 38: 1709-1715.



- Monsalve, E., P. J. Oviedo, M. A. Garcia-Perez, J. J. Tarin, A. Cano, C. Hermenegildo. Estradiol counteracts oxidized LDL-induced asymmetric dimethylarginine production by cultured human endothelial cells. *Cardiovasc. Res.* 2007; 73: 66-72.
- Mookerjee, R. P., R. N. Dalton, N. A. Davies, S. J. Hodges, C. Turner, R. Williams, R. Jalan. Inflammation is an important determinant of levels of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine (ADMA) in acute liver failure. *Liver Transpl.* 2007; 13: 400-405.
- Morrow J. D., B. Frei, A. W. Longmire, J. M. Gaziano, S. M. Lynch, Y. Shyr, W. E. Strauss, J. A. Oates, L. J. Roberts 2nd. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N. Engl. J. Med.* 1995; 332: 1198-1203.
- Munro, M., R. S. Cotran. The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Lab. Invest.* 1988; 58: 249-261.
- Najbauer, J., B. A. Johnson, A. L. Young, D. W. Aswad. Peptides with sequences similar to glycine, arginine-rich motifs in proteins interacting with RNA are efficiently recognized by methyltransferase(s) modifying arginine in numerous proteins. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 10501-10509.
- Nangaku, M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 17-25.
- Nijveldt, R. J., T Teerlink, C. van Guldener, H. A. Prins, A. A. van Lambalgen. Handling of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetrical dimethylarginine (SDMA) by the rat kidney under basal conditions and during endotoxemia. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2003; 18 a: 2542-2550.
- Nijveldt, R. J., T. Teerlink, B. van der Hoven, M. P. Siroen, D. J. Kuik. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin. Nutr.* 2003; 22 b: 23-30.
- Nijveldt, R. J., T. Teerlink, M. P. C. Siroen, A. A. van Lambalgen, J. A. Rauwerda, P. A. M. van Leeuwen. The liver is an important organ in the metabolism of asymmetrical dimethylarginine (ADMA). *Clin. Nutr.* 2003; 22 c: 17-22.
- Nilsson, J. Cytokines and smooth muscle cells in atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.* 1993; 27: 1184-1190.

Noris M., M. Todeschini, P. Cassis, F. Pasta, A. Cappellini, S. Bonazzola, D. Macconi, R. Maucci, F. Porrati, A. Benigni, C. Picciolo, G. Remuzzi. L-Arginine depletion in pre-eclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species. *Hypertension* 2004; 43: 614-622.

Ogawa, T., M. Kimoto, K. Sasaoka. Purification and properties of a new enzyme, NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase, from rat kidney. *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 10205-10209.

Onozato, M. L., A. Tojo, J. Leiper, T. Fujita, F. Palm, C. S. Wilcox. Expression of DDAH and PRMT isoforms in the diabetic rat kidney; effects of angiotensin II receptor blocker. *Diabetes* 2008; 57: 172-180.

Osanai, T., M. Saitoh, S. Sasaki, H. Tomita, T. Matsunaga, K. Okumura. Effect of shear stress on asymmetric dimethylarginine release from vascular endothelial cells. *Hypertension* 2003; 42: 985-990.

Päivä, H., J. Laakso, T. Lehtimäki, M. Isomustajarvi, I. Ruukonen. Effect of high-dose statin treatment on plasma concentrations of endogenous nitric oxide synthase inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2003; 41 a: 219-222.

Päivä, H., T. Lehtimäki, J. Laakso, I. Ruukonen, V. Rantalaiho. Plasma concentrations of asymmetric dimethyl-arginine in type 2 diabetes associate with glycemic control and glomerular filtration rate but not with risk factors of vasculopathy. *Metabolism* 2003; 52 b: 303-307.

Piatti, P., G. Fragasso, L. D. Monti, E. Setola, P. Lucotti. Acute intravenous L-arginine infusion decreases endothelin-1 levels and improves endothelial function in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms: correlation with asymmetric dimethylarginine levels. *Circulation* 2003; 28: 429-436.

Plenz, G., C. Koenig, N. J. Severs, H. Robenek. Smooth muscle cells express GMCSF in the undiseased and atherosclerotic human coronary artery. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 2489-2499.

Pope, A. J., K. Karupiah, A. J. Cardounel. Role of the PRMT-DDAH-ADMA axis in the regulation of endothelial nitric oxide production. *Pharmacol. Res.* 2009; 60: 461-465.

Pou, S., L. Keaton, W. Surichamom, G. M. Rosen. Mechanism of superoxide generation by neuronal nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 1999; 60: 9573-9580.

- Prabhakar, S., J. Starnes, S. Shi, B. Lonis, R. Tran. Diabetic nephropathy is associated with oxidative stress and decreased renal nitric oxide production. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 18: 2945-2952.
- Preli, R. B., K. P. Klein, D. M. Herrington. Vascular effects of dietary L-arginine supplementation. *Atherosclerosis* 2002; 162: 1-15.
- Quaschnig, T., F. T. Ruschitzka, W. Maier, T. F. Lüscher. Die Rolle des Endothels bei der Entstehung und Behandlung von Gefäßerkrankungen. *Der Internist* April 2000; 41: 355-362.
- Raines, E. W., M. E. Rosenfeld, R. Ross. The role of macrophages. *Atheroscl. Cor. Art. Dis.* 1996; 7: 539-555.
- Ravani, P., G. Tripepi, F. Malberti, S. Testa, F. Mallamaci. Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patient with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16: 2449-2455.
- Rector, T. S., A. J. Bank, K. A. Mullen. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. *Circulation* 1996; 93: 2135-2141.
- Redman, C. W. G. Immunology of preeclampsia. *Semin. Perinatol.* 1991; 15: 257-262.
- Rees, D. D., R. M. J. Palmer, H. F. Hodson, S. Moncada. A specific inhibitor of nitric oxide formation from L-arginine attenuates endothelium-dependent relaxation. *Br. J. Pharmacol.* 1989; 96: 418-424.
- Rees, D. D., R. M. Palmer, R. Schulz, H. F. Hodson, S. Moncada. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br. J. Pharmacol.* 1990; 101: 746-752.
- Reilly, M., N. Delanty, J. A. Lawson, G. A. FitzGerald. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* 1996; 94: 19-25.
- Ridker, P. M., N. J. Brown, D. E. Vaughan, D. G. Harrison, J. L. Mehta. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation* 2004; 109: IV6-IV19.
- Robenek, H., N. J. Severs. *Cell interactions in atherosclerosis.* Crc Pr Inc, 1992.

Ross, R. Growth regulatory mechanisms and formation of the lesion in atherosclerosis. *Annu. NY Acad. Sci.* 1995; 748: 1-6.

Ross, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective of the 1990's. *Nature* 1993; 362: 801-809.

Rubanyi, G. M. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993; 22: S1-S4.

Sasaki, S., N. Kuwahara, K. Kunitomo, S. Harada, T. Yamada. Effects of atorvastatin on oxidized low-density lipoprotein, low-density lipoprotein subfraction distribution, and remnant lipoprotein in patients with mixed hyperlipoproteinemia. *Am. J. Cardiol.* 2002; 89: 386-389.

Satoh, M., S. Fujimoto, S. Arakawa, T. Yada, T. Namikoshi, Y. Haruna, H. Horike, T. Sasaki, N. Kashihara. Angiotensin II type 1 receptor blocker ameliorates uncoupled endothelial nitric oxide synthase in rats with experimental diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2008; 23: 3806-3813.

Savidou, M. D., A. D. Hingorani, D. Tsikas, J. C. Frölich, P. Vallance. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003; 361: 1511-1517.

Scalera, F., J. T. Kielstein, J. Martens-Lobenhoffer, S. C. Postel, M. Tager, S. M. Bode-Böger. Erythropoietin increases asymmetric dimethylarginine in endothelial cells: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005; 16: 892-898.

Schiebler, T. H., H-W. Korf. *Anatomie - Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie.* Heidelberg: Steinkopff Verlag, 2007.

Schmidt, M. I., B. B. Duncan, A. R. Sharrett, G. Lindberg, P. J. Savage, S. Offenbacher, M. I. Azambuja, R. P. Tracy, G. Heiss. Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet* 1999; 353: 1649-1652.

Schmitt, B., M. Wolters, G. Kressel, O. Hülsmann, A. Ströhle, W. N. Kühn-Velten, R. Lichtinghagen, A. Bub, S. W. Barth, D. O. Stichtenoth, A. Hahn. Effects of combined supplementation with B vitamins and antioxidants on plasma levels of asymmetric

dimethylarginine (ADMA) in subjects with elevated risk for cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2007; 193: 168-176.

Schneider, C. A. „Kardiovaskuläre Risikofaktoren und deren therapeutische Beeinflussung.“ In *Klinische Kardiologie, Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße*, von Erland Erdmann. Köln: Springer Berlin Heidelberg, 2009.

Schulman, S. P., L. C. Becker, D. A. Kass, H. C. Champion, M. L. Terrin, S. Forman, K. V. Ernst, M. D. Kelemen, S. N. Townsend, A. Capriotti, J. M. Hare, G. Gerstenblith. L-Arginine therapy in acute myocardial infarction: the Vascular Interaction With Age in Myocardial Infarction (VINTAGE MI) randomized clinical trial. *JAMA* 2006; 295: 58-64.

Schulze, F., R. Wesemann, E. Schwedhelm, K. Sydow, J. Albsmeier, J. P. Cooke, R. H. Böger. Determination of ADMA using a novel ELISA assay. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2004; 42: 1377-1383.

Schwedhelm, E. Quantification of ADMA: analytical approaches. *Vasc. Med.* 2005; 10: 89-95.

Schwedhelm, E., R. Maas, J. Tan-Andresen, F. Schilze, U. Riederer, R. H. Böger. High-throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007;851: 211-219.

Selley, M. L. Homocysteine increases the production of asymmetric dimethylarginine in cultured neurons. *J. Neurosci. Res.* 2004; 77: 90-93.

Sharma, M., Z. Zhou, H. Miura, A. Papapetropoulos, E. T. McCarthy, R. Sharma, V. J. Savin, E. A. Lianos. ADMA injures glomerular filtration barrier: role of nitric oxide and superoxide. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2009; 296: F1386-F1395.

Shibata, R., S. Ueda, S. Yamagishi, Y. Kaida, Y. Matsumoto, K. Fukami, A. Hayashida, H. Matsuoka, S. Kato, M. Kimoto, S. Okuda. Involvement of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in tubulointerstitial ischemia in the early phase of diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2009; 24: 1162-1169.

Siroen, M. P., M. C. Warlé, T. Teerlink, R. J. Nijveldt, E. J. Kuipers. The transplanted liver graft is capable of clearing asymmetric dimethylarginine. *Liver Transpl.* 2004; 10: 1524-1530.

Siroen, M. P., J. R. van der Sijp, T. Teerlink, C. van Schaik, R. J. Nijveldt, P. A. van Leeuwen. The human liver clears both asymmetric and symmetric dimethylarginine. *Hepatology* 2005; 41 a: 559-565.

Siroen, M. P., P. A. van Leeuwen, R. J. Nijveldt, T. Teerlink, P. J. Wouters. Modulation of asymmetric dimethylarginine in critically ill patients receiving intensive insulin treatment: a possible explanation of reduced morbidity and mortality? *Crit. Care Med.* 2005; 33 b: 504-510.

Siroen, M. P., T. Teerlink, A. C. Bolte, R. M. van Elburg, M. C. Richir. No compensatory upregulation of placental dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity in preeclampsia. *Gynecol. Obst. Invest.* 2006; 62 a: 7-13.

Siroen, Michiel P. C., Tom Teerlink, Robert J. Nijveldt, Hubert A. Prins, Milan C. Richir, Paul A. M. van Leeuwen. The Clinical Significance of Asymmetric Dimethylarginine. *Annu. Rev. Nutr.* 2006; 26 b: 203-228.

Smirnova, I. V., T. Sawamura, M. S. Goligorsky. Upregulation of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) in endothelial cells by nitric oxide deficiency. *Am. J. Physiol.* 2004; 287: F25-32.

Spoelstra-de Man, A. M., T. Teerlink, C. B. Brouwer, J. A. Rauwerda, C. D. Stehouwer, Y. M. Smulders. No effect of B vitamins on ADMA levels in patients at increased cardiovascular risk. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2006; 64: 495-501.

Stark, J. M. Preeclampsia and cytokine-induced oxidative stress. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1993; 100: 105-109.

Sary, H. C., A. B. Chandler, R. E. Dinsmore, V. Fuster, S. Glagov, W. Insull Jr, M. E. Rosenfeld, C. J. Schwartz, W. D. Wagner, R. W. Wissler. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. *Circulation* 1995; 92: 1355-1374.

Steinberg, H. O., G. Brechtel, A. Johnson, N. Fineberg, A. D. Baron. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 1172-1179.

Stranges, S., L. B. Rafalson, J. Dmochowski, K. Rejman, R. P. Tracy, M. Trevisan, R. P. Donahue. Additional contribution of different risk factors to the prediction of the risk of

type 2 diabetes: evidence from the Western New York Study. *Obesity* 2008; 16: 1370-1376.

Stroes, E., J. Kastelein, F. Cosentino, W. Erkelens, R. Wever, H. Koomans, T. Lüscher, T. Rabelink. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia. *J. Clin. Invest.* 1997; 99: 41-46.

Stühlinger, M. C., F. Abbasi, J. W. Chu, C. Lamendola, T. L. McLaughlin. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* 2002; 287: 1420-1426.

Stühlinger, M. C., P. S. Tsao, J. H. Her, M. Kimoto, R. F. Balint. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001;104: 2569-2575.

Stühlinger, M. C., R. K. Oka, E. E. Graf, I. Schmölder, B. M. Upson. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2003; 108: 933-938.

Stühlinger, M. C., O. Stanger. Asymmetric dimethyl-L-arginine (ADMA): a possible link between homocyst(e)ine and endothelial dysfunction. *Curr. Drug Metab.* 2005; 6: 3-14.

Sydow, K., C. E. Mondon, J. P. Cooke. Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA. *Vasc. Med.* 2005; 10: 35-43.

Sydow, K., E. Schwedhelm, N. Arakawa. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc. Res.* 2003; 57: 244-252.

Tal, M. G. Type 2 diabetes: microvascular ischemia of pancreatic islets? *Med. Hypoth.* 2009; 73: 357.

Tan, B., D. J. Jiang, H. Huang, S. J. Jia, J. L. Jiang, C. P. Hu, Y. J. Li. Taurine protects against low-density lipoprotein-induced endothelial dysfunction by the DDAH/ADMA pathway. *Vascul. Pharmacol.* 2007; 46: 338-345.

Tojo, A., W. J. Welch, V. Bremer, M. Kimoto, K. Kimura, M. Omata, T. Ogawa, P. Vallance, C. S. Wilcox. Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney. *Kidney Int.* 1997; 52: 1593-1601.

Tousoulis, D., G. Davies, C. Tentolouris, T. Crake, P. Toutouzas. Coronary stenosis dilatation induced by L-arginine. *Lancet* 1997; 349: 1812-1813.

Tran, C. T., M. F. Fox, P. Vallance, J. M. Leiper. Chromosomal localization, gene structure, and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications of evolutionary origins. *Genomics* 2000; 68: 101-105.

Tsikas, D., R. H. Böger, J. Sandmann, S. M. Bode-Böger, J. C. Frölich. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. *FEBS letters* 2000; 478: 1-3.

Tsukimori, K., K. Ishida, H. Maeda, T. Koyanagi, H. Nakano. The placenta as a possible source of the factor causing endothelial cell injury in preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* 1994; 13: 358.

Ueda, S., S. Kato, H. Matsuoka, M. Kimoto, S. Okuda, M. Morimatsu, T. Imaizumi. Regulation of cytokine-induced nitric oxide synthesis by asymmetric dimethylarginine. *Circ. Res.* 2003; 92: 226-233.

Ueda, S., S. Yamagishi, S. Okuda. New pathways to renal damage: role of ADMA in retarding renal disease progression. *J. Nephrol.* 2010; 23: 377-386.

Ueda, S., S. Yamagishi, Y. Kaida, S. Okuda. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) may be a missing link between chronic kidney disease (CKD) and cardiovascular disease (CVD). *Nephrology* 2007; 12: 582-590.

Vallance, P., A. Leone, A. Calver, J. Collier, S. Moncada. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992; 20 a: 60-62.

Vallance, P., A. Leone, A. Calver, J. Collier, S. Moncada. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339 b: 572-573.

Vincent MA, Clerk LH, Lindner JR, Klibanov AL, Clark MG, Rattigan S, Barrett EJ. Microvascular recruitment is an early insulin effect that regulates skeletal muscle glucose uptake in vivo. *Diabetes* 2004; 53: 1418-1423.

Vita, J. A., J. F. Jr. Keaney. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? *Circulation* 2002; 106: 640-642.



Wakino, S., K. Hayashi, S. Tatematsu, K. Hasegawa, I. Takamatsu. Pioglitazone lowers systemic asymmetric dimethylarginine by inducing dimethylarginine dimethylaminohydrolase in rats. *Hypertens. Res.* 2005; 28: 255-262.

Wang; D., P. S. Gill, T. Chabrashvili, M. L. Onozato, J. Raggio, M. Mendonca, K. Dennehy, M. Li, P. Modlinger, J. Leiper, P. Vallance, O. Adler, A. Leone, A. Tojo, W. J. Welch, C. S. Wilcox. Isoform-specific regulation by NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase of rat serum asymmetric dimethylarginine and vascular endothelium-derived relaxing factor/NO. *Circ. Res.* 2007; 101: 627-635.

Wang, G. R., Y. Zhu, P. V. Halushka, T. M. Lincoln, M. E. Mendelsohn. Mechanism of platelet inhibition by nitric oxide: in vivo phosphorylation of thromboxane receptor by cyclic GMP-dependent protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95: 4888-4893.

Wang, J., A. S. Sim, X. L. Wang, D. E. Wilcken. L-Arginine regulates asymmetric dimethylarginine metabolism by inhibiting dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity in hepatic (HepG2) cells. *Cell. Molec. Life Sci.* 2006; 63: 2838-2846.

Weis, M., T. N. Kledal, K. Y. Lin, S. N. Panchal, S. Z. Gao, H. A. Valantine, E. S. Mocarski, J. P. Cooke. Cytomegalovirus infection impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine in transplant arteriosclerosis. *Circulation* 2004; 109: 500-505.

Wilcken, D. E., J. Wang, A. S. Sim, K. Green, B. Wilcken. Asymmetric dimethylarginine in hyperhomocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency: relevance of renal function. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2006; 29: 30-37.

Williams, D. J., P. J. T. Vallance, H. Neild, J. A. D. Spencer, F. J. Imms. Nitric oxide-mediated vasodilation in human pregnancy. *Am. J. Physiol.* 1997; 272: H748-H752.

Xia, Y., V. L. Dawson, T. M. Dawson, S. H. Snyder, J. L. Zweier. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 6770-6774.

Xin, H. Y., et al. Regulation by DDAH/ADMA pathway of lipopolysaccharide-induced tissue factor expression in endothelial cells. *Thromb. Haemost.* 2007; 97: 830-838.

Yanagisawa, M., H. Kurihara, S. Kimura, K. Goto, T. Masaki. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Calcium channels. *J. Hypertens.* 1988; 6: 188-191.

Yang, T. L., M. F. Chen, B. L. Luo, Q. Y. Xie, J. L. Jiang, Y. L. Li. Fenofibrate decreases asymmetric dimethylarginine level in cultured endothelial cells by inhibiting NF-kappaB activity. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2005; 371: 401-407.

Yilmaz, M. I., M. Saglam, A. Sonmez, K. Caglar, E. Cakir, Y. Kurt, T. Eyileten, M. Tasar, C. Acikel, Y. Oguz, A. Vural, M. Yenicesu. Improving proteinuria, endothelial functions and asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease: ramipril versus valsartan. *Blood Purif.* 2007; 25: 327-335.

Yilmaz, M. I., A. Sonmez, M. Saglam, A. R. Qureshi, J. J. Carrero, K. Caglar, T. Eyileten, E. Cakir, Y. Oguz, A. Vural, M. Yenicesu, B. Lindholm, P. Stenvinkel, J. Axelsson. ADMA levels correlate with proteinuria, secondary amyloidosis, and endothelial dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 19: 388-395.

Yin, Q. F., S. H. Fu, P. He, Y. Xiong. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase inhibition and asymmetric dimethylarginine accumulation contribute to endothelial dysfunction in rats exposed to glycosylated protein: effects of aminoguanidine. *Atherosclerosis* 2007; 190: 53-61.

Yin, Q. F., Y. Xiong. Pravastatin restores DDAH activity and endothelium-dependent relaxation of rat aorta after exposure to glycated protein. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2005; 45: 525-532.

Yu, X. J., Y. J. Li, Y. Xiong. Increase of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in serum of high cholesterol fed rabbits. *Life Sci.* 1994; 54: 753-758.

Zabalgoitia, M., J. L. Halperin, L. A. Pearce, J. Blankshear, R. Asinger, R. Hart. Transesophageal echocardiographic correlates of clinical risk of thromboembolism is nonvalvular atrial fibrillation. Stroke prevention in atrial fibrillation III investigators. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998; 31: 1622-1626.

Ziegler, S., F. Mittermayer, C. Plank, E. Minar, M. Wolzt, G. H. Schernthaner. Homocyst(e)ine-lowering therapy does not affect plasma asymmetrical dimethylarginine concentrations in patients with peripheral artery disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 2175-2178.

Zoccali, C., S. Bode-Böger, F. Mallamaci, F. Benedetto, G. Tripepi, L. Malatino, A. Cataliotti, I. Bellanuova, I. Fermo, J. Frölich, R. Böger. Plasma concentration of

asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113-2117.

Zoccali, C., F. Mallamaci, R. Maas, F. A. Benedetto, G. Tripepi. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002; 62: 339-345.

## **5 Danksagung**

Bei Herrn Prof. Dr. H. Robenek möchte ich mich für die interessante Themenstellung, die freundschaftliche Zusammenarbeit und die jederzeit hilfsbereite Betreuung bedanken.

Meinen Eltern und meiner Frau danke ich für ihre Unterstützung während meines gesamten Studiums.

## **6 Lebenslauf**

