

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie

Direktor: Prof. Dr. med. Rainer H. Böger

Erektile Dysfunktion bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen:
Hinweise für ein gestörtes Verhältnis zwischen L-Arginin und
ADMA.

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Universität Hamburg

Vorgelegt von

Marcus Zabel

Hamburg 2011

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 23.02.2012

Veröffentlicht mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Rainer Böger

Prüfungsausschuss, 2 Gutachter: Prof. Dr. Hans Heinzer

Prüfungsausschuss, 3 Gutachter: Prof. Dr. Frank Sommer

Für meine Familie

Für meine Ehefrau

Für meinen Sohn

Für meine Mutter

Inhaltsverzeichnis

1. Fragestellung	1
2. Einleitung	3
2.1. Physiologie der Erektion	3
2.2. Erektile Dysfunktion (ED)	6
2.2.3. Inzidenz und Prävalenz der erektilen Dysfunktion	6
2.3. Das Endothel	10
2.4. Koronare Herzerkrankung (KHK)	11
2.5. L-Arginin-Stickstoffmonoxid-Stoffwechselweg	11
2.5.1. Stickstoffmonoxid (NO)	11
2.5.2. Stickstoffmonoxidsynthasen (NOS)	14
2.5.3. Verfügbarkeit des Substrats L-Arginin	16
2.5.4. NOS-Expression	17
2.5.5. Oxidativer Stress und beeinträchtigte NO-Verfügbarkeit	18
2.5.6. Inhibition der NOS	20
2.6. Asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin (ADMA)	21
2.6.1. Ursprung und Schicksal des ADMA	21
3. Material und Methoden	27
3.1. Klinische Kriterien	27
3.2. Einschätzung der erektilen Dysfunktion und kardiovaskulären Erkrankung	28
3.3. Klinische Chemie	29
3.3.1. Gewinnung und Lagerung des Plasmas	29
3.3.2. ADMA-Messung mit Hilfe der HPLC	29
3.4. Materialien	31
3.4.1. Chemikalien:	31
3.4.2. HPLC-Laufpuffer:	31
3.4.3. Verbrauchsmaterialien:	31
3.4.4. Laborgeräte:	32

3.5. Statistische Analyse	32
4. Ergebnisse	34
4.1. ADMA, L-Arginin und der L-Arginin/ADMA-Quotient bei Männern mit erektiler Dysfunktion	34
4.2. ADMA, L-Arginin und der L-Arginin/ADMA-Quotient bei Männern mit KHK	38
5. Diskussion:	42
5.1. ADMA als Risikomarker für KHK bei Männern mit ED	42
5.2. Die potentielle pathophysiologische Rolle von ADMA und der L-Arginin/ADMA Ratio bei erektiler Dysfunktion	44
6. Zusammenfassung	47
7. Abkürzungsverzeichnis	48
8. Literaturverzeichnis	50
9. Abbildungsverzeichnis	72
10. Tabellenverzeichnis	73
11. Anhang	74
11.1. IIEF-5-Fragenbogen	74
11.3. Publikation	77
11.4. Danksagung	78
11.5. Eidesstattliche Erklärung	79

1. Fragestellung

Die koronare Herzkrankheit (KHK) und die erektile Dysfunktion vaskulären Ursprungs sind eng miteinander verwandt und teilen sich gemeinsame Risikofaktoren. Der endogene Stickstoffmonoxid-(NO)-Synthase-Inhibitor asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin (ADMA) wurde kürzlich als unabhängiger Risikofaktor für KHK identifiziert.

Die Aminosäure L-Arginin, die das einzige Vorläufermolekül für das im Körper freigesetzte Stickstoffmonoxid (NO) darstellt, dient als Substrat der Stickstoffmonoxidsynthase (NOS), welche L-Arginin in Stickstoffmonoxid und L-Citrullin umsetzt und in drei Isoformen vorkommt. Endogene Inhibitoren der Stickstoffmonoxidsynthase sind asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin (ADMA) und L-N-Monomethylarginin (L-NMMA), wobei ADMA höhere Plasmaspiegel einnimmt als L-NMMA.

Stickstoffmonoxid, das den Gefäßtonus moduliert, ist der potenteste bekannte endogene Vasodilatator und spielt eine wichtige Rolle in der durch hämodynamisch vermittelten Vasodilatation, welche durch die durch Scherkräfte induzierte endotheliale Stickstoffmonoxidfreisetzung ausgelöst wird.

Neben der Gefäßdilatation beeinflusst Stickstoffmonoxid die vaskuläre Struktur, indem es die Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen unterdrückt, was durch Beeinflussung der Signalkaskade und der Genexpression geschieht. Zudem kann Stickstoffmonoxid über mehrere Stunden die Expression von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen reduzieren. Weiterhin hemmt es die Interaktion zirkulierender Blutbestandteile mit der Gefäßwand, die Monozytenadhärenz und die Plättchenaggregation. Durch diesen Mechanismus wirkt Stickstoffmonoxid als antiatherogenes Molekül.

ADMA wird durch den Katabolismus von Proteinen freigesetzt, die methylierte Argininreste enthalten. Diese Proteine finden sich zum größten Teil im Nukleus und scheinen am RNA-Processing sowie in der Transkriptionsrolle beteiligt zu sein.

In dieser Arbeit wurden die ADMA-Plasmakonzentrationen von 132 männlichen Patienten mit erektiler Dysfunktion gemessen. Dazu wurden die Patienten in eine Gruppe aus 56 Männern mit zusätzlicher KHK (ED-KHK) und eine Gruppe aus 76 Männern ohne klinische Anzeichen für eine KHK (ED-ohne KHK) aufgeteilt.

Zur Diagnostik einer erektilen Dysfunktion wurde der International Index of Erectile Function Score (IIEF-5) verwendet.

Ziel dieser Arbeit war es, erstens zu sehen, ob ADMA bei Patienten mit ED signifikant erhöht ist, und zweitens, die Plasmakonzentration von ADMA und seinen Vorhersagewert für das Vorhandensein einer KHK bei Männern mit ED zu bestimmen.

2. Einleitung

2.1. Physiologie der Erektion

Aus dem Zusammenspiel vaskulärer, kavernöser, hormoneller, psychischer und zentralnervöser Faktoren resultiert die Erektion. Ein geringer arterieller Blutfluß besteht im erschlafften Zustand, bei dem die glatte Muskulatur kontrahiert ist, und die kavernösen Hohlräume kleinvolumig sind. Der venöse Abfluß zeigt sich unbeeinträchtigt. Die Erweiterung der kavernösen Hohlräume sowie Abnahme des arteriellen Widerstandes wird durch Relaxation der glatten Muskulatur der Schwellkörper bedingt, was durch Zusammenspiel von psychogenen, olfaktorischen, visuellen und taktilen Reizen hervorgerufen wird. Gleichzeitig kommt es zu einer Erweiterung des arteriellen Gefäßsystems mit sich anschließender Zunahme (20- bis 40fache des normalen Blutflusses) des arteriellen Einstroms. Die sinusoidalen Hohlräume füllen sich zunehmend, wodurch das Volumen der Corpora cavernosa um 300-400% zunimmt (Tumesenzphase). Dies bewirkt eine Kompression des subtunikalen Venengeflechts gegen die Tunica albuginea und somit des venösen Abflußsystems. Die Rigidität des Penis nimmt durch den venookklusiven Mechanismus zu. Drücke über 120 mm Hg können interkavernös gemessen werden. Werte über 400 mm Hg werden bei vollständiger Rigidität gemessen, wenn es kurz vor dem Orgasmus zu einer Kompression der erigierten Schwellkörper durch die Mm. ischiocavernosi kommt. Die Detumeszenz wird durch zunehmende sympathische Einflüsse und abnehmende parasympathische Impulse hervorgerufen.

Molekulare Grundlagen der Erektion, Neurotransmitter

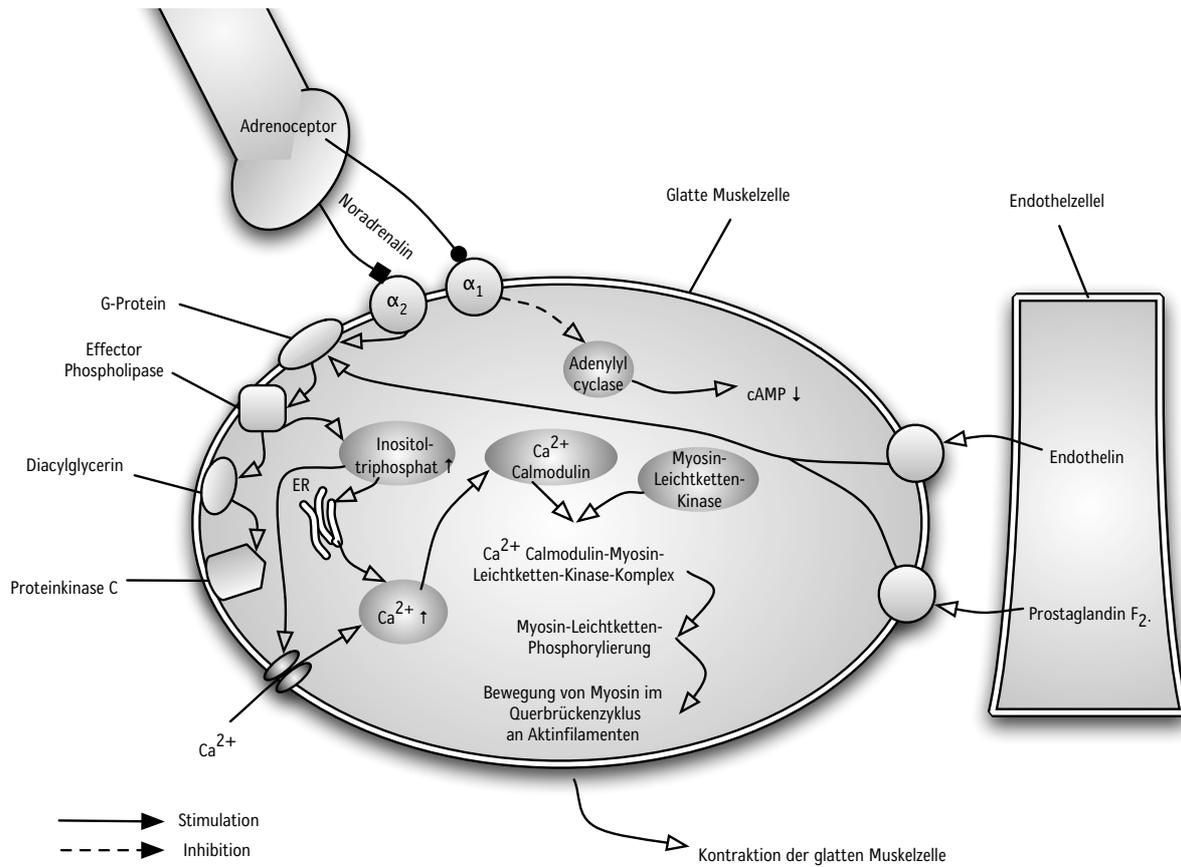


Abbildung 1: Molekularer Mechanismus der Kontraktion peniler glatter Muskulatur. Aus sympathischen Nervenendigungen freigesetztes Noradrenalin und vom Endothel freigesetztes Endothelin sowie Prostaglandin F₂ aktivieren Rezeptoren der glatten Muskelzelle und initiieren damit die Reaktionskaskade, die in einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration und Kontraktion der glatten Muskelzelle resultiert. (Dean et Lue 2005)

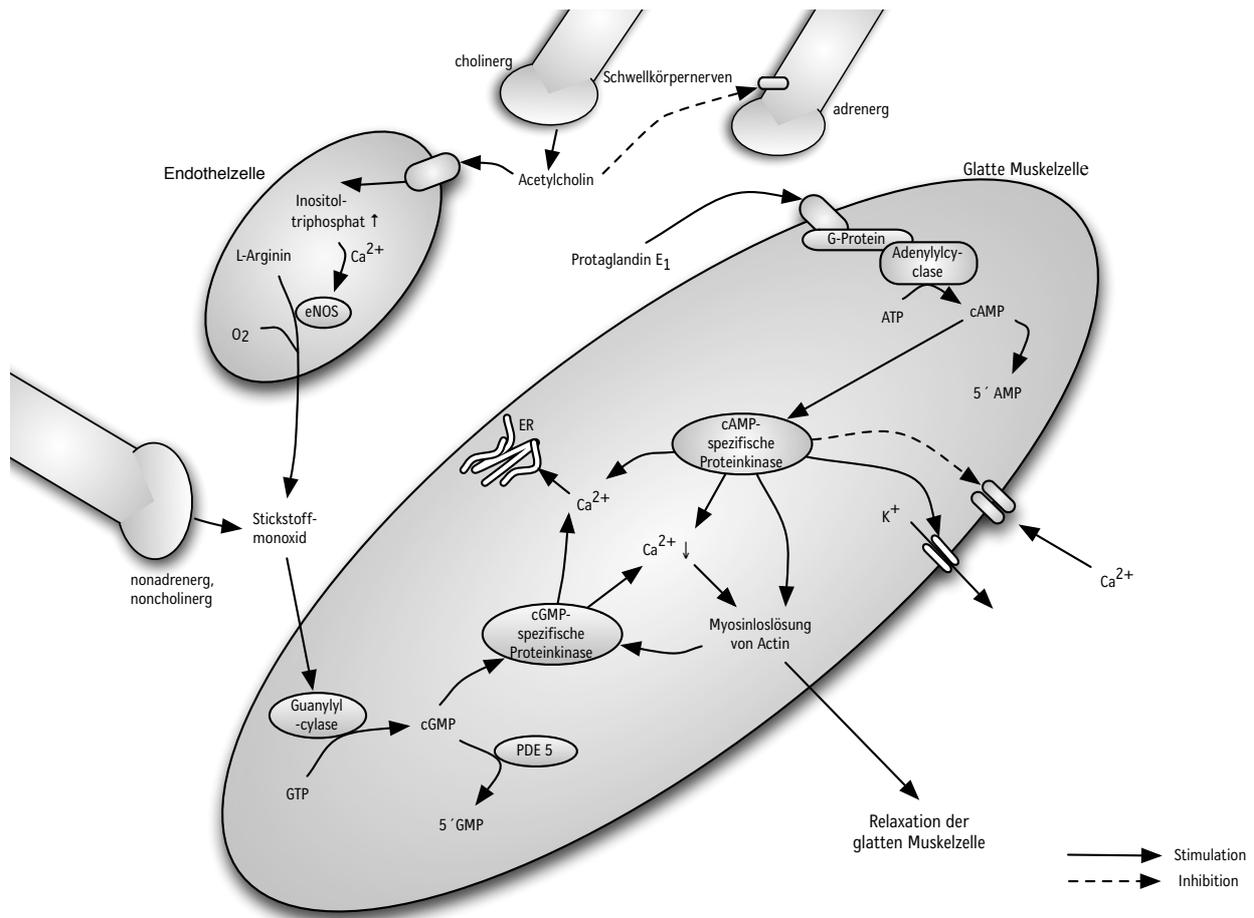


Abbildung 2: Molekularer Mechanismus der Relaxation peniler glatter Muskulatur. Cyclisches AMP (cAMP) und cyclisches GMP (cGMP), intrazelluläre second messenger, aktivieren spezifische Proteinkinasen, die bestimmte Proteine phosphorylieren, was zu einer Öffnung von Kaliumkanälen, Schließung von Calciumkanälen und Abnahme der intrazellulären Calciumkonzentration führt. Daraus resultiert die Relaxation der glatten Muskelzelle (Dean et Lue 2005).

Der Tonus der glatten Muskulatur der Gefäßwände der Aa. helicinae und der trabekulären Hohlräume, welcher ausschlaggebend für die Erektion ist, ist abhängig vom intrazellulären Calciumspiegel der glatten Muskelzellen. Der intrazelluläre Calciumspiegel wird durch Botenstoffe und verschiedene Neurotransmitter gesteuert, was sich auf die Erektion bzw. Detumeszenz auswirkt. Der wichtigste Neurotransmitter ist hierbei das von Acetylcholin freigesetzte Stickstoffmonoxid (NO) (Masuda 2008). Eine lösliche Guanylatzyklase wird nach Diffusion des NO in die glatte Muskelzelle aktiviert. Diese setzt Guanidin-5'-triphosphat (GTP) in cyclisches Guanidin-5'-monophosphat (cGMP) um. Als second messenger aktiviert cGMP eine spezifische Proteinkinase, welche bestimmte Proteine und Ionenkanäle phosphoryliert. Dies bewirkt eine Öffnung von Kaliumkanälen und eine Hypopolarisation der glatten

Muskelzellenmembran. Gleichzeitig führt es dazu, daß das Endoplasmatische Retikulum intrazelluläres Calcium aufnimmt und die Calciumkanäle inaktiviert werden und somit der Calciuminflux blockiert wird. Als Resultat nimmt die cytosolische Calciumkonzentration ab, die glatte Gefäß- und Schwellkörpermuskulatur relaxiert und es kommt zur konsekutiven Erektion. Die Phosphodiesterase 5 reguliert die cGMP-Wirkung und damit die Beendigung der Erektion. Dies geschieht durch Hydrolyse von cGMP zu Guanosin-5'-Monophosphat (GMP). Im Schwellkörper sind zudem weitere Phosphodiesterasen vorhanden und es existieren parallel noch andere vasodilatatorische Mechanismen. Noradrenalin (NA) als Vasokonstriktor vermittelt die Detumeszenz. NA wird von parasympathischen Nervenendigungen in die Schwellkörper ausgeschüttet, wo es an den glatten Muskelzellmembranen die Adrenorezeptoren aktiviert, welche einen vermehrten Calciuminflux vermitteln. Dies führt zur penilen Detumeszenz (Martinez Portillo et al. 2001; Dean et Lue 2005).

2.2. Erektile Dysfunktion (ED)

2.2.3. Inzidenz und Prävalenz der erektilen Dysfunktion

In den westlichen Ländern ist mindestens jeder zehnte Mann von einer erektilen Dysfunktion (ED) betroffen, die als anhaltende oder immer wiederkehrende Unfähigkeit, eine für die sexuell befriedigende Kohabitation ausreichende Erektion zu erreichen oder aufrechtzuerhalten, definiert ist. Aktuelle Schätzungen gehen davon aus, dass weltweit etwa 152 Millionen Männer von einer ED betroffen sind (Anonymous 1992; Feldman et al. 1994; Green et al. 2001) und dass die Inzidenz und Prävalenz der ED weiter ansteigen wird (Ayta et al. 1999). Das Risiko für eine ED steigt stufenweise bei fortschreitendem Alter an, wobei geschätzte 54% aller 65-70 jährigen Männer an einem gewissen Grad von Impotenz leiden (Nicolosi et al. 2003). Die ED wird allgemein als organisch, psychogen oder psychogen-organisch verursacht klassifiziert, wobei die organisch bedingte ED die verbreitetste Form ist (NIH consensus development panel on impotence 1993).

Klassifikation und häufige Ursachen der erektilen Dysfunktion nach Dean et Lue (2005)

Einteilung der erektilen Dysfunktion	Allgemeine Störungen	Pathophysiologie
Psychogen	Leistungsangst Partnerschaftliche Probleme Psychischer Stress Depression	Libidoverlust Über-Inhibition Verschlechterte NO-Freisetzung
Neurogen	Insult oder M. Alzheimer Rückenmarksverletzung Radikaler beckenchirurgischer Eingriff Diabetische Neuropathie Beckenverletzung	Fehlerhafte Nervenimplusinitierung oder unterbrochene neurale Transmission
Hormonell	Hypogonadismus Hyperprolaktämie	Libidoverlust und inadäquate NO-Freisetzung
Vaskulär bedingt (arteriell oder kavernös)	Atherosklerose Arterieller Hypertonus Diabetes mellitus Trauma Induratio penis plastica	Inadäquater arterieller Fluß oder verminderte venöse Okklusion
Pharmakon-induziert	Antihypertensiva oder Antidepressiva Antiandrogene Alkoholabusus Nikotinabusus	Zentrale Suppression Regrediente Libido Alkohol-induzierte Neuropathie Vaskuläre Insuffizienz
Durch systemische Erkrankungen oder Alter verursacht	Hohes Alter Diabetes mellitus Chronischen Nierenversagen Koronare Herzkrankheit	Gewöhnlich durch Malnutrition bedingte neurale und vaskuläre Dysfunktion

Tabelle 1: Klassifikation und häufige Ursachen der erektilen Dysfunktion: Kategorien, allgemeine Störungen und Pathophysiologie.

Die organisch bedingte ED wird gewöhnlich, sofern sie nicht traumatisch verursacht ist, durch abnormale Funktion und Reaktion der durch Alter oder eine zugrunde liegende Erkrankung veränderten penilen Gefäße hervorgerufen (Parazzini et al. 2000; Moreira et al. 2001; Rosas et al. 2001).

Es wird angenommen, daß die organisch bedingte ED als weitere Manifestation einer generalisierten atherosklerotischen Gefäßerkrankung (Feldman et al. 2000; Solomon et al. 2003 B) ein Vorbote der koronaren Herzkrankheit (KHK) ist (Billups 2005; Ponholzer et al. 2005; Montorsi et al. 2006; Billups et al. 2008; Araujo et al. 2010). Montorsi und Kollegen vermuteten 2003 in einer retrospektiven Analyse, daß die ED in bis zu 70% aller Fälle vor dem Eintreten einer Angina pectoris bei Patienten mit KHK aufträte (Montorsi et al. 2003 A). In einer Folgestudie zeigten sie, daß der Zeitraum zwischen beiden

Ereignissen bei der Mehrheit der untersuchten Patienten zwei bis drei Jahre betrug (Montorsi et al. 2006), Jackson und Kollegen ermittelten drei bis fünf Jahre (Jackson et al. 2008). Es konnte gezeigt werden, daß die Schwere der ED in Beziehung zum Ausmaß der KHK steht (Greenstein et al. 1997; Solomon et al. 2003 B).

ED und KHK teilen sich gemeinsame pathophysiologische Mechanismen wie endotheliale Dysfunktion, arterielle Okklusion und systemische Inflammation (Maas et al. 2002; Ganz 2005; Guay 2007). Zudem gibt es gemeinsame Risikofaktoren wie Rauchen, Übergewicht, arterielle Hypertonie und Hyperlipidämie wie Feldman und Kollegen 2000 sowie Fung und Kollegen 2004 darstellten (Feldman et al. 2000; Fung et al. 2004). Auffällig ist die hohe Coprävalenz beider Gefäßveränderungen (Jackson et al. 2008). So tritt die erektile Dysfunktion häufig bei Patienten mit KHK auf. Studien zeigen, daß ein signifikanter Teil (42-75%) dieser Patienten eine ED aufweisen (Tuttle et al. 1964; Montorsi et al. 2003 A; Solomon et al. 2003 B). 2005 stellten Montorsi und Kollegen die Hypothese auf, daß sich eine generalisierte arteriell progrediente okklusive Gefäßerkrankung zunächst in den kleineren und später den großen Gefäßen manifestieren würde. Gemäß der Natur der Atherosklerose sollten alle größeren arteriellen Gefäße im selben Ausmaß betroffen sein. Der Unterschied im zeitlichen Auftreten verschiedener Symptome wurde mit der unterschiedlichen Größe der Arterien, welche verschiedene Versorgungsgebiete hätten, erklärt. So würden größere Gefäße die selbe Menge an Plaque besser tolerieren als kleinere. Da penile Arterien (1-2-mm) einen kleineren Gefäßdurchmesser als Koronararterien (3-4 mm) hätten, würden Patienten mit ED selten gleichzeitig Symptome der KHK wie z.B. Angina pectoris haben. KHK-Patienten hingegen würden häufig eine ED beklagen (Montorsi et al. 2005). Prospektive Studien konnten vor kurzem zeigen, daß die ED die Entwicklung der KHK (Gazzaruso et al. 2008; Schouten et al. 2008; Inman et al. 2009) und die KHK-Mortalität (Araujo et al. 2009) voraussagt. Das Risiko für das Auftreten einer mit ED assoziierten KHK ist ähnlich hoch wie das durch traditionelle KHK-Risikofaktoren (Rauchen, arterieller Hypertonus oder eine positive Familienanamnese bezüglich Myokardinfarkten) bedingte (Araujo et al. 2009; Inman et al. 2009). Die ED bietet keine bessere Vorhersage für die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer späteren KHK als traditionellen KHK-Risikofaktoren (Araujo et al. 2010).

Die Atherosklerose ist eine systemische Erkrankung, die einheitlich alle Hauptgefäße betrifft. Dennoch treten die klinischen Manifestationen der vaskulären Erkrankungen selten gleichzeitig im selben Patienten auf. Dies mag dadurch erklärt werden, dass die Arterien, die die unterschiedlichen Gewebe (i.e. Penis, Herz, Gehirn, untere Extremitäten) mit Blut versorgen, eine unterschiedliche Größe haben. Es ist bekannt, dass der arterielle Zufluss in die Corpora cavernosa, der benötigt wird, um eine rigide Erektion zu erhalten, erheblich ist und dass geringe Abnormalitäten zu hämodynamischen Veränderungen führen, die ausreichend sind, um eine ED zu verursachen [Lue 2002]. Bei einer >50%igen Lumenobstruktion (der Bereich, ab dem eine strömungsbedingte Stenose definiert ist) wäre es wegen ihres größeren arteriellen Durchmessers weniger wahrscheinlich, dass dieselbe Plaquelast, die die penile Blutzirkulation beeinträchtigt, eine signifikante Obstruktion des Blutflusses der Herzkranzgefäße, Karotiden oder Femoralarterien bewirken und damit zu KHK, TIA oder pAVK führen würde. Wenn der atherosklerotische Prozeß fortschreitet und dadurch das Lumen der Herzkranzarterien signifikant reduziert wird (>50% Lumenobstruktion), führt dies zu spezifischen Symptomen (i.e. Angina pectoris). Zum gleichen Zeitpunkt hätte sich die penile Blutzirkulation durch eine zugenommene Obstruktion weiter verschlechtert.

Das Risiko einer ED steigt mit dem Vorhandensein von Diabetes (McCulloch et al. 1980; Fedele et al. 2001; Martin-Morales et al. 2001; Siu et al. 2001), Hypercholesterinämie (Virag et al. 1985; Wei et al. 1994; Martin-Morales et al. 2001), arterieller Hypertonie (Parazzini et al. 2000; Martin-Morales et al. 2001), Atherosklerose (Jensen et al. 1999; Martin-Morales et al. 2001) und Niereninsuffizienz (Procci et al. 1981; Palmer 1999, Türk et al. 2001). Von diesen Erkrankungen und Zuständen ist bekannt, dass sie mit einer endothelialen Dysfunktion assoziiert sind (Drexler et al. 1991; Egashira et al. 1993 A et B; Panza et al. 1993; Böger et al 1997; Böger et al 1998 A; Morris et al. 2001).

2.3. Das Endothel

Das Gefäßendothel ist ein nur aus einer Zellschicht bestehender Gewebefilm, welcher die glatte Gefäßmuskulatur vom Strombett trennt. Es erhält die vaskuläre Homöostasis aufrecht und moduliert die Gefäßantwort auf hämodynamische Kräfte sowie humorale und neuronale Stimulation. In der Gefäßtonusregulation nimmt das Endothel durch Freisetzung verschiedener vasoaktiver Substanzen wie Stickstoffmonoxid (NO), Prostacyclin und Endothelin eine wichtige Rolle ein, da es wie glatte Gefäßmuskulatur Rezeptoren für diese Substanzen aufweist. Eine Vasodilatation wird durch Stimulation der endothelialen Rezeptoren ausgelöst, während das Stimulieren glatter Gefäßmuskulatur eine Vasokonstriktion verursacht. Bei gesundem Endothel dominiert der vasodilatierende Effekt, bei verletztem oder erkranktem Endothel der vasokonstringierende (Furchgott et al. 1980; Cooke 2005).

Bei der Endotheldysfunktion kommt es zu einer abgeschwächten oder fehlenden vasodilatativen Endothelantwort auf einen mechanischen oder ischämischen Reiz, weshalb sie als früher Indikator für eine Atherosklerose gilt (Rubanyi 1993). Böger und Kollegen wiesen 1996 nach, daß zahlreiche bekannte Atheroskleroserisikofaktoren mit einer verminderten Stickstoffmonoxidbioverfügbarkeit am Endothel assoziiert sind (Böger et al. 1996).

Das vom Endothel freigesetzte Stickstoffmonoxid (NO), der Mediator der Relaxation der glatten Muskelzellen, spielt eine Schlüsselrolle in der endothelialen Funktion und Dysfunktion (Moncada 1997; Goligorsky et al. 2000). Dies schafft eine entscheidende Verbindung zu der Physiologie und Pathophysiologie der penilen Erektion, bei der die NO-vermittelte Relaxation der glatten Muskelzellen eine entscheidende Rolle darstellt (Burnett 1997; Masuda 2008). Eine verschlechterte NO-Bildung mag deshalb als pathologischer Schlüsselmechanismus der endothelialen (Moncada et al. 1993; Kelm et al. 2001) und erektilen Dysfunktion (Kim et al. 1991; Rajfer et al. 1992; Masuda 2008) betrachtet werden, wobei ein NO-Mangel und die daraus resultierende endotheliale Dysfunktion als wesentliches pathophysiologisches Bindeglied der erektilen Dysfunktion und kardiovaskulären Erkrankung gesehen wird (Rajfer et al. 1992; Burnett 1997; Maas et al. 2002; Solomon et al. 2003 A; Virag et al. 2004; Aktoz et al. 2010).

2.4. Koronare Herzerkrankung (KHK)

Die auf dem Boden einer Atherosklerose entstehenden stenosierenden Veränderungen der Herzkranzgefäße werden als koronare Herzerkrankung bezeichnet. Sie können zu einem Mißverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im abhängigen Herzmuskelareal führen. Klinische und zeitliche Manifestation der KHK können variabel sein. Zumeist sind die frühen Stadien der KHK asymptomatisch trotz bereits bestehender endothelialer Dysfunktion und Lipideinlagerungen in der Gefäßwand. Ein Fortschreiten der Erkrankung äußert sich meistens als Angina pectoris. Die deutsche Todesursachenstatistik wird von den klinischen Manifestationen der KHK wie Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen und Myokardinfarkt angeführt (Bundesärztekammer 2011).

2.5. L-Arginin-Stickstoffmonoxid-Stoffwechselweg

2.5.1. Stickstoffmonoxid (NO)

Furchgott und Zawadzki konnten 1980 in vitro anhand von isolierten Gefäßpräparaten nachweisen, daß zur Relaxierung durch Acetylcholin Endothelzellen notwendig waren. Sie vermuteten, daß Acetylcholin über Bindung an Muskarinrezeptoren die Freisetzung eines "endothelium derived relaxing factor" (EDRF) durch Endothelzellen stimulieren würde, was zur Relaxierung glatter Gefäßmuskelzellen führen würde (Furchgott et Zawadzki 1980). Später wurde EDRF als Stickstoffmonoxid (NO) identifiziert (Ignarro et al. 1987; Palmer et al. 1987).

NO, das den Gefäßtonus moduliert, ist der potenteste bekannte endogene Vasodilatator (Pohl et al. 1986; Rees et al. 1986; Vallance et al. 1989; Cooke et al. 1991) und spielt eine wichtige Rolle in der durch den Blutfluß-vermittelten Vasodilatation, welche durch die durch Scherkräfte induzierte endotheliale NO-Freisetzung ausgelöst wird (Pohl et al. 1986; Cooke et al. 1991). Innerhalb einiger Sekunden bis Minuten kann NO die lösliche Guanylatzyklase stimulieren, die cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) produziert. Der second messenger cGMP führt zu einer Kaskade an Phosphorylierungen, die die zelluläre Signalkaskade moduliert (Förstermann et al. 1986; Krümenacker et al. 2004). Zudem kann

NO direkt vaskuläre Proteine regulieren, indem es mit deren Sulfhydryl-Gruppe zu Nitrosothiol reagiert (Singel et Stamler 2005).

Neben der Gefäßdilatation beeinflusst NO die vaskuläre Struktur. Es unterdrückt die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen, was durch Beeinflussung der Signalkaskade und der Genexpression geschieht (Garg et Hassid 1989; Böger et al. 1998 B; Bauer et al. 2001).

Zudem hemmt NO die Interaktion zirkulierender Blutbestandteile mit der Gefäßwand sowie die Plättchenadhärenz und -aggregation (Alheid et al. 1987; Wolf et al. 1997). Kubes und Kollegen beschrieben 1991, daß NO die Monozyten- und Leukozyten-Adhärenz an der Gefäßwand hemme. Dadurch käme es zur Reduktion intrazellulären oxidativen Stresses, welcher für die vermehrte Adhäsivität von Monozyten bei Atherosklerose und Hypercholesterinämie verantwortlich gemacht wird (Kubes et al. 1991).

Theilmeier und Kollegen zeigten in ihrer Studie 1997, daß die Adhäsivität humaner Monzyten durch Hypercholesterinämie verstärkt und durch die Gabe von L-Arginin in vivo rückgängig gemacht werden konnte. In vitro hemmten L-Arginin und vom Endothel freigesetztes NO die Monozytenadhäsivität (Theilmeier et al. 1997).

NO hat auch einen chronischen Effekt auf die Genexpression. NO kann über mehrere Stunden die vaskuläre Inflammation hemmen, indem es die Expression und Aktivität von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen unterdrückt, die an der Monozyten-Infiltration beteiligt sind (Tsao et al. 1996; Tsao et al. 1997). NO inhibiert die oxidationssensitive Transkription der Gene, die diese Proteine kodieren [Garg et Hassid 1989; De Caterina et al. 1995; Tsikas et al. 2000]. Weiterhin reduziert NO die vaskuläre Produktion von Superoxidradikalen (Böger et al. 1995).

NO verhindert auch die Oxidation von low-density Lipoproteinen (LDL). Oxidiertes LDL (oxLDL) wird nicht mehr von den dafür vorgesehenen zellulären Rezeptoren gebunden. Stattdessen nehmen Zellen der arteriellen Gefäßwand, insbesondere Makrophagen, oxLDL über Scavenger-Rezeptoren auf. Diese werden im Gegensatz zu normalen LDL-Rezeptoren nicht durch einen hohen intrazellulären Cholesterinspiegel inhibiert. Dieser Prozeß führt dazu, daß sich Makrophagen zu sogenannten Schaumzellen umwandeln, welche inflammatorische Cytokine sezernieren und durch Bindegewebeeinglagerungen in die Gefäßwand zur Ausbildung atherosklerotischer Plaques führen (Hogg et al. 1993; Leitinger et al. 1995).

Während NO ein Überlebensfaktor für Endothelzellen ist und die endotheliale Zellproliferation fördert, induziert von Endothelzellen freigesetztes NO die Apoptose proliferierender glatter Gefäßmuskelzellen sowie von Entzündungszellen (Dimmler et al. 1999; Wang et al. 1999).

Durch diese Mechanismen wirkt NO als antiatherogenes Molekül [Böger et al. 2000 A; Napoli et Ignarro 2001].

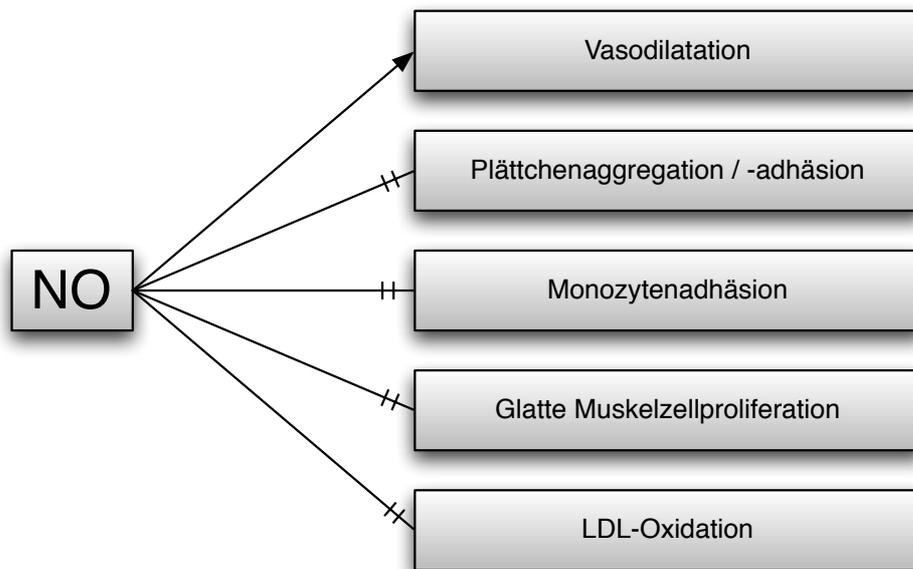


Abbildung 3: Stickstoffmonoxid-Wirkmechanismen

In vaskulären glatten Muskelzellen aktiviert NO die lösliche Guanylatzyklase, bei welcher es sich um ein dimeres Enzym aus zwei identischen Untereinheiten handelt, das in einem inaktiven und einem aktiven Zustand vorkommt und im letzteren Guanosin triphosphat (GTP) zu cyclischem Guanosinmonophosphat (cGMP) umsetzt (Arnold et al. 1977). Das Verhältnis von inaktiver zu aktiver Form des Enzyms hängt von der Konzentration von NO ab: je höher die NO-Konzentration, desto höher die Aktivität der Guanylatzyklase.

Berichte über erektile Dysfunktion in cGMP-abhängige Kinase-I (cGKI)-Mangel-Mäusen weisen darauf hin, dass cGMP der hauptsächliche second messenger bei der ED ist (Hedlund et al. 2000 A). Diese Ergebnisse werden durch Daten der klinischen Effizienz des Phosphodiesterase Typ 5-Inhibitors Sildenafil bestätigt, der die Degradation von cGMP verhindert (Goldstein et al. 1998). Zudem zeigte die

Studie in cGKI-Mangel-Mäusen, daß cAMP-vermittelte Signalwege in vivo nicht ausreichend die intrazelluläre cGMP-abhängige Signalübermittlung kompensieren können (Hedlund et al. 2000 A). cGKI scheint die Myosinleichtkettenphosphatasen zu regulieren und damit eine Relaxation der glatten Muskulatur zu verursachen (Surks et al. 1999).

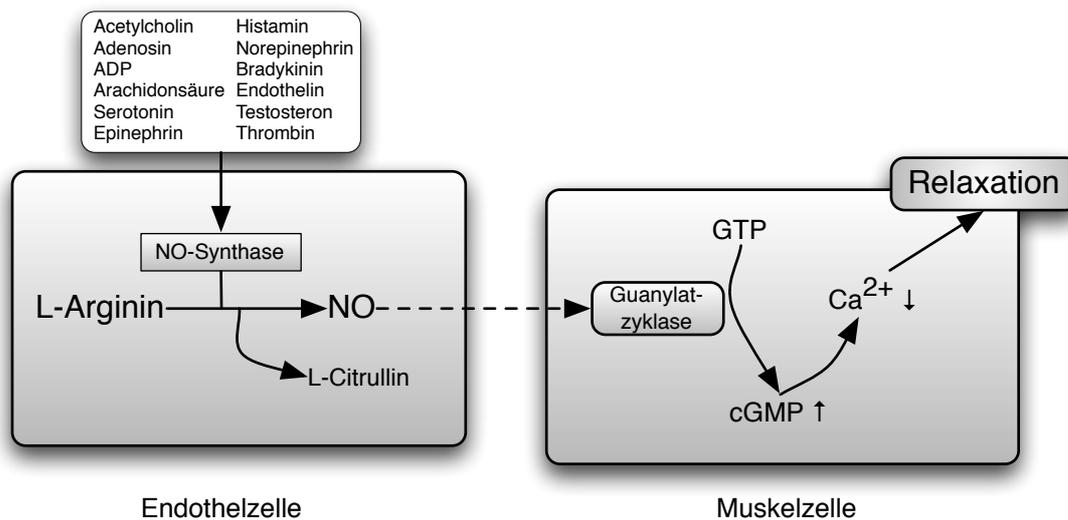


Abbildung 4: Stickstoffmonoxid: Seine Synthese und relaxierende Wirkung auf die glatter Muskelzelle

2.5.2. Stickstoffmonoxidsynthasen (NOS)

Die Aminosäure L-Arginin, die das einzige Vorläufermolekül für das im Körper freigesetzte Stickstoffmonoxid (NO) darstellt, dient als Substrat der Stickstoffmonoxidsynthase (NOS), welche Calmodulin- und Calcium-abhängig ist. Diese setzt L-Arginin in Gegenwart von Sauerstoff in NO und L-Citrullin (Palmer et al. 1988 A et B) um und kommt in drei Isoformen vor (Mayer et al. 1991; Pollock et al. 1991, Andrew et Mayer 1999). NO entsteht im Endothel durch die endotheliale Isoform der NO-Synthase (Förstermann et al. 1994) Während die endotheliale NOS (eNOS) grundlegend im Endothel exprimiert wird, liegt die neuronale NOS (nNOS) konstitutiv in Nervenzellen vor. Es konnte die nNOS auch außerhalb des Nervensystems, u.a. in Gefäßmuskelzellen, identifiziert werden (Papapetropoulos et al. 1999). Die Aktivierung der eNOS und nNOS erfolgt primär durch eine Zunahme der intrazellulären Calciumkonzentration (Andrew et al. 1999). Die dritte Isoform (iNOS) liegt nicht konstitutiv vor.

Durch bakterielle Endotoxine oder inflammatorische Zytokine wird ihre Expression insbesondere in Zellen des Immunsystems induziert (Papapetropoulos et al. 1999).

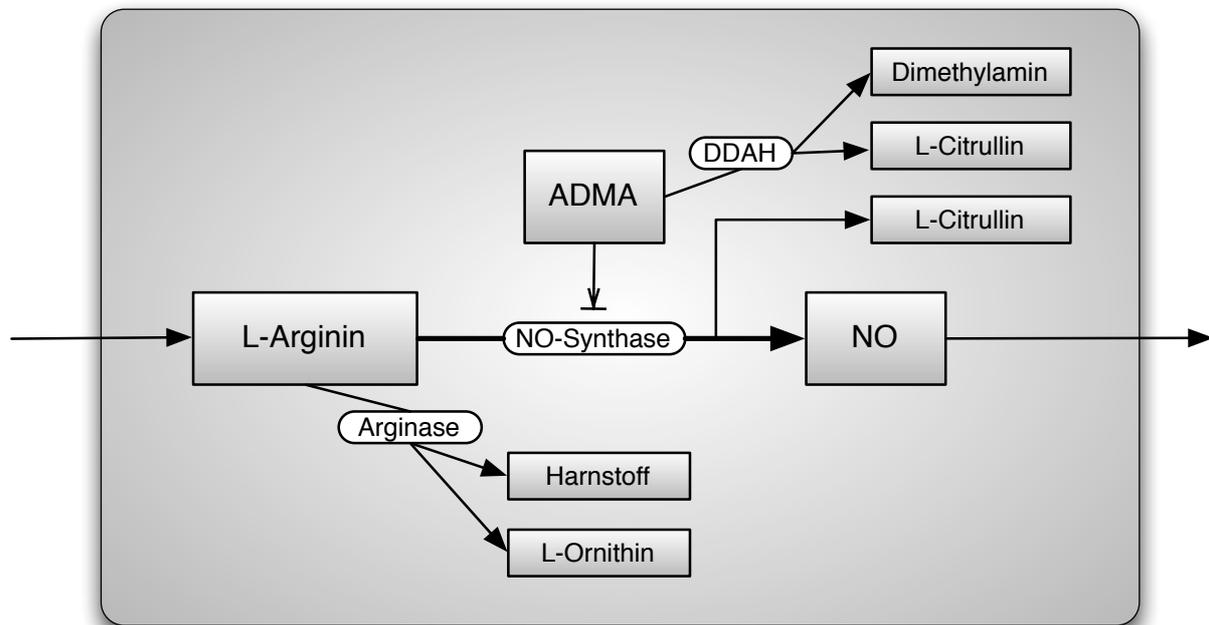


Abbildung 5: L-Arginin-Stickstoffmonoxid-Stoffwechselweg modifiziert nach Maas et al 2002

NO kann synthetisiert und freigesetzt werden von nicht-cholinergen Nervenendigungen durch spezifische neuronale NO-Synthasen (nNOS) sowie vom Endothel durch endotheliale NO-Synthasen (eNOS) (Burnett 1997). Durch sexuelle Stimulierung wird NO direkt aus Nervenenden oder aus Endothelzellen freigesetzt, welche durch Acetylcholin stimuliert werden, das aus cholinergen Nervenenden freigesetzt wird (Lue 2000; Dean et Lue 2005). Obwohl eine Beteiligung der endothelialen wie der neuronalen NO-Synthase an der penilen Erektion schon frühzeitig angenommen worden ist (Rajfer et al. 1992), wird über die relative Wichtigkeit beider Signalwege noch immer debatiert. Eine Hemmung der nNOS führt zu einer abgeschwächten Erektion (Ignarro et al. 1990).

Überraschenderweise zeigten Mäuse, denen die nNOS fehlte, keine offenkundigen Anzeichen einer erektilen Dysfunktion (Huang et al. 1993; Burnett et al. 1996). Dies wurde zurückgeführt auf Spleiß-Varianten der nNOS oder einer zusätzlichen penisspezifischen NOS (PnNOS) in nNOS knock-out-Mäusen (Gonzalez-Cadavid et al. 2000). Es zeigte sich auch, daß bei Mäusen ohne eNOS die erektilen Funktion erhalten blieb (Burnett et al. 2002). Jedoch war der intrakavernöse Druck während der Erekti-

on bei diesen eNOS-losen Mäusen signifikant erniedrigt und die NO-Synthaseaktivität betrug nur 60% der Aktivität, die bei Wildtyp-Mäusen beobachtet wurde. Numao und Kollegen zeigten 2007 mittels Western Blot-Analyse, daß die nNOS in kavernösen Gewebeproben junger, drei- bis sechs Monate alter Kaninchen stark exprimiert, in 36- bis 48-Monate alten Kaninchen hingegen nicht detektierbar oder stark vermindert war, wobei sich die Gesamt-NOS-Aktivität unverändert zeigte. Die Arginase-Aktivität im gealtertem kavernösen Gewebe war signifikant höher als bei jungen Kaninchen (Numao et al. 2007). Es ist wahrscheinlich, dass die physiologische penile Erektion durch die nNOS und eNOS vermittelt wird (Ahn et al. 2009; Schlenker et al. 2010). Obwohl induzierbare NO-Synthasen im Penis beschrieben worden sind, ist ihre Rolle bei der penilen Erektion oder erektilen Dysfunktion bis jetzt noch nicht definiert (Escrig et al. 2002; Schlenker et al. 2010). Es gibt Hinweise, dass die iNOS die Corpora cavernosa vor den profibrotischen Effekten einer Hyperglykämie bei Diabetes mellitus Typ 1 schützt (Ferrini et al. 2010).

2.5.3. Verfügbarkeit des Substrats L-Arginin

Verschiedene grundsätzliche Pathomechanismen mögen für eine verminderte Verfügbarkeit von NO bei der endothelialen wie der erektilen Dysfunktion verantwortlich sein. Die NO-Synthese ist abhängig von der Verfügbarkeit von dem Substrat L-Arginin, Calmodulin/ Ca^{2+} und zusätzlichen Cofaktoren wie Tetrahydrobiopterin, Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADPH), Flavin-adeninmononucleotid (FMN) und Flavin-adenin-dinucleotid (FAD) (Alderton et al. 2001).

Für die NO-Synthese wird das Substrat L-Arginin in die Säugetierzelle von wenigstens vier verschiedenen Carrier-Systemen (y^+ , y^+L , b^{0+} und B^{0+}) transportiert (Deves et Boyd 1998). Die Regulation dieser Carrier ist komplex und bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht vollständig aufgeklärt. Es ist von Interesse, dass der L-Arginin-Transport über den y^+ -Carrier durch endogene L-Arginin-Analoga wie das asymmetrische Dimethyl-L-Arginin (ADMA) (Closs et al. 1997) gehemmt werden kann. Der Transport des L-Arginin kann auch nicht-kompetitiv durch urämische erhöhte Harnstoff-Konzentrationen gehemmt werden. Intrazellulär konkurriert die NO-Synthase mit Enzymen wie der Arginase um das Substrat L-

Arginin (Masuda 2008). Eine Inhibition der Arginase durch 2(S)-Amino-6-boronohexanoicssäure (ABH) führt zu einer signifikanten Steigerung der nicht-adrenergen, nicht-cholinergen Nerven-vermittelten Relaxation der glatten Muskelzellen des Corpus cavernosum des Penis. Dies führt zur Annahme, dass eine Hemmung der Arginase höhere L-Arginin-Konzentrationen für die NO-Synthese bewirkt (Cox et al. 1999; Cama et al. 2003; Masuda et al. 2004).

2.5.4. NOS-Expression

Die NOS-Expression mag induzierbar (iNOS) oder konstitutiv sein (Michel et Feron 1997). Unter physiologischen Bedingungen werden eNOS und nNOS konstitutiv im Endothel und in penilen Nervenendigungen exprimiert (Dail et al. 1995; Bloch et al. 1998; Hedlund et al. 2000 B). Diese Expression ist aber nicht gänzlich konstitutiv. Die Expression der eNOS und nNOS unterliegt komplexen regulatorischen Mechanismen (Förstermann et al. 1998; Alderton et al. 2001). Ausgesuchte Faktoren beeinflussen die eNOS-Expression. So kommt es zu einer Hochregulation u.a. durch Scherstress (Xiao et al. 1997), eine verminderte Salzaufnahme (Tojo et al. 2000), eine erniedrigte Konzentration an oxidiertem LDL (Hirata et al. 1995), HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren (Laufs et al. 1998), Calciumkanalblocker (Kobayashi et al. 1999; Yamashita et al. 2001), Urämie (Abdel-Gawad et al. 1999 A et B), hohes Alter (Haas et al. 1998) und zu einer Runterregulation u.a. durch Hypertension (Crabos et al. 1997), eine vermehrte Salzaufnahme (Ni et Vaziri 2001), eine erhöhte Konzentration an oxidiertem LDL (Böger et al. 2000 A), Tumor Nekrose Faktor- α (Yoshizumi et al. 1993), eine erniedrigte Androgenkonzentrationen (Marin et al. 1999).

Eine verminderte Androgen-Konzentration, wie sie bei älteren Individuen gefunden wird, mag eine verschlechterte Expression der penilen NO-Synthase verursachen (Marin et al. 1999). Andererseits ist eine altersabhängige Zunahme der iNOS-Expression beschrieben worden (Ferrini et al. 2001). Im cavernösen Gewebe des Kaninchen hingegen erscheint die Expression der eNOS mit zunehmendem Alter hochreguliert zu werden (Haas et al. 1998). Allerdings war die NO-Synthase in älteren Kaninchen verschlechtert. Ebenso waren in Urämie-Tiermodellen die eNOS-Expression und Proteinkonzentration erhöht, während die NO-Produktion erniedrigt war (Abdel-Gawad et al. 1999 A et B).

Es mag von Interesse sein, daß atheromatöse Lipide/Lipoproteine einen inhibitorischen Effekt auf die eNOS-Expression (Wei et al. 1994; Liao et al. 1995) und die Endothelfunktion als ganzes haben (Adams et al. 2000).

2.5.5. Oxidativer Stress und beeinträchtigte NO-Verfügbarkeit

Die Störung des NOS-Wegs kann folgendermaßen kategorisiert werden: Verminderung der 1) NO-Halbwertszeit, 2) Sensitivität gegenüber NO, 3) NOS-Expression oder 4) NOS-Aktivität. Experimentelle Anhaltspunkte existieren für jeden dieser Mechanismen (Cooke et Oka 2001). Die Halbwertszeit von NO ist unter Bedingungen des oxidativen Stress reduziert (Rubanyi et Vanhoutte 1986).

Mit zunehmenden Hinweisen für die ursächliche Rolle des oxidativen Stress bei der Atherosklerose (Maytin et al. 1999) und endothelialen Dysfunktion (Heitzer et al. 1996; Harrison 1997; Maytin et al. 1999) nimmt der Verdacht zu, dass er auch die erektile Dysfunktion mitverursachen könnte (Jeremy et al. 2000). Der genaue Betrag des oxidativen Stress an der Entstehung der erektilen Dysfunktion ist bis jetzt noch nicht im Detail evaluiert worden. Einige Mechanismen, die bei der endothelen Dysfunktion beschrieben worden sind, dürften auch Parallelen bei der erektilen Dysfunktion haben. Durch Reaktion mit NO oder Behinderung des NO-vermittelten Signalwegs könnten hochreaktive Sauerstoffteilchen (ROS) eine erektile Dysfunktion mitverursachen (Murohara et al. 1994). Diese Mechanismen verdienen Beachtung, da gezeigt werden konnte, dass durch die Infusion der Antioxidans Ascorbinsäure die vaskuläre Antwort auf Acetylcholin bei Patienten mit endothelialer Dysfunktion wiederhergestellt werden konnte (Heitzer et al. 1996; Heitzer et al. 2001).

Es wird angenommen, dass NO gleich nach dessen Synthese abgefangen wird. Zudem gibt es Hinweise, dass dieses Phänomen auftritt, wenn der nNOS oder eNOS zu wenig des Substrats L-Arginin oder Kofaktoren zur Verfügung stehen (Pou et al. 1992; Vasquez-Vivar 1998). Die NO-Synthase ist von Tetrahydrobiopterin als Kofaktor abhängig (Alderton et Cooper 2001). Eine endotheliale Dysfunktion, die mit einem Tetrahydrobiopterinmangel einherging, konnte durch Tetrahydrobiopterin-Ersatz wieder

rückgängig gemacht werden (Stroes et al. 1997; Heitzer et al. 2000; Tiefenbacher et al. 2000). Im Corpus cavernosum des Kaninchens erhöht Tetrahydrobiopterin die Aktivität der NOS um 30% (Bush et al. 1992). Ascorbinsäure potenziert die NO-Synthese mittels chemischer Stabilisation des Tetrahydrobiopterin (Heller et al. 2001). Ein Mangel an diesem geht mit einer erhöhten Belastung durch freie Radikale wie beim oxidativem Stress einher (Heitzer et al. 2000). Verantwortlich für diesen NO-Mangel sind ROS-ähnliche Superoxidanionen (O_2^-) (Gryglewski et al. 1986). Durch die Reaktion von NO und O_2^- kommt es zu der sehr schnellen Bildung von Peroxidnitritanionen ($ONOO^-$) (Beckman et Koppol 1996). Peroxidnitritanionen reagieren mit Proteinen, wodurch es zur Nitrosation von Tyrosin-Dimeren kommt. Dies führt zu einer Inaktivierung der Enzyme (MacMillan-Crow et al. 1996; Zou et al. 1997). Zusätzlich kommt es zu einer Lipidperoxidation, wodurch es zur Zerstörung der Zellmembran, Störung der Signalkaskade sowie des Überlebens der Zelle kommt. Zu den oxidativen Enzymen, die für den oxidativen Stress in der Gefäßwand verantwortlich sind, gehören die NAD(P)H-Oxidase, die Xanthinoxidase sowie die NO-Synthase (Pou et al. 1992, Pritchard et al. 1995; Stroes et al. 1997; Vasquez-Vivar et al. 1998; Xia et al. 1998).

Eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO wurde mit Atherosklerose und kardiovaskulärer Erkrankung in Verbindung gebracht. Ein unabhängiger Risikofaktor für diese beiden Erkrankungen ist die Hyperhomocyst(e)inämie (McDowell et Lang 2000, Sydow et Böger 2001). Homocysteine reduziert ebenfalls die Endothel-abhängige Relaxation des Corpus cavernosum wahrscheinlich durch Generierung von O_2^- , was in zur Bildung von $ONOO^-$ führt (Khan et al. 1999). Obwohl $ONOO^-$ kavernöse glatte Muskelzellen mittels cGMP-Bildung relaxiert, ist es weniger potent als NO, aus dem es gebildet worden ist. Es mag daher zur Entstehung einer erektilen Dysfunktion beitragen (Khan et al. 2001).

2.5.6. Inhibition der NOS

Die Inzidenz der ED steigt mit dem Vorhandensein von Atherosklerose (Virag et al. 1985; Martin-Morales et al. 2001), Diabetes (Fedele et al. 2001; Martin-Morales et al. 2001; Siu et al. 2001), Hypertonie (Parazzini et al. 2000; Martin-Morales et al. 2001), Hypercholesterämie (Wei et al. 1994; Martin-Morales et al. 2001) und renaler Insuffizienz (Procci et al. 1981; Palmer 1999; Türk et al. 2001).

Alle diese Zustände sind mit einer veränderten endothelialen NO-Produktion assoziiert. Immer mehr Studien deuten darauf hin, dass eine verschlechterte NOS-Funktion eher als eine beeinträchtigte NOS-Expression Ursache einer insuffizienten NO-Produktion ist (Abdel-Gawad et al. 1999 B).

Dies lenkt die Aufmerksamkeit auf eine lange Liste von NOS-Inhibitoren, die häufig in Studien des NO-L-Arginin-Stoffwechselwegs zur ED eingesetzt werden (Burnett et al. 1992; Bush et al. 1992; Trigo-Rocha et al. 1993). Analoga des L-Arginin wie N^G-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA), N^G-Nitro-L-Arginin (L-NNA) und N^G-Nitro-L-Arginin-Methylester (L-NAME) hemmen effektiv die Relaxation des kavernösen Gewebes (Holmquist et al. 1991 A et B; Kim et al. 1991; Pickard et al. 1991; Rajfer et al. 1992). Dem kompetitiv inhibitorischen Effekt wirkt exogen zugeführtes L-Arginin entgegen (Kim et al. 1991; Rajfer et al. 1992). Ihre Wirksamkeit beim Bewirken einer ED unter verschiedenen in vitro und in vivo Bedingungen hebt die mögliche Bedeutung von NOS-Inhibitoren bei ED hervor. Bis jetzt erreichte keiner der bisher untersuchten NOS-Inhibitoren physiologisch relevante Konzentration in vivo (Faraci et al. 1995). Überraschenderweise wurde ein NOS-Inhibitor bisher wenig bei ED untersucht: ADMA. Viele Zustände, die mit ED zusammenhängen, sind bekanntlich mit erhöhten ADMA-Plasmakonzentration assoziiert wie KHK (Cooke et Dzau 1997; Böger et Bode-Böger 2000 B), pAVK (Böger et al. 1997; Böger et al. 2011), arterieller Hypertonus (Goonasekera et al. 1997; Surdacki et al. 1999), Niereninsuffizienz (Vallance et al. 1992; MacAllister et al. 1996 B; Schmidt et al. 1999; Al Banchaabouchi et al. 2000; Schwedhelm et Böger 2011), Diabetes mellitus (Lin et al. 2002; Anderssohn et al. 2010) und Atherosklerose (Miyazaki et al. 1999). ADMA ist ein selektiver, endogener NOS-Inhibitor [Vallance et al. 1992].

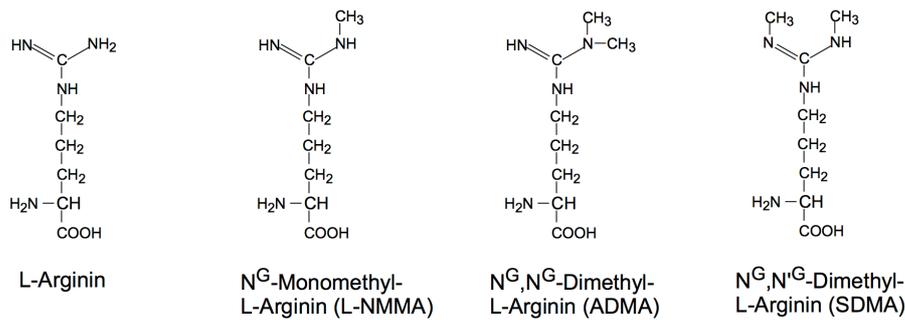


Abbildung 6: L-Arginin im Strukturvergleich zu seinen Analoga

2.6. Asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin (ADMA)

2.6.1. Ursprung und Schicksal des ADMA

ADMA wird durch den Katabolismus von Proteinen freigesetzt, die methylierte Argininreste enthalten. Diese Proteine finden sich zum größten Teil im Nukleus und scheinen am RNA-Processing sowie in der Transkriptionskontrolle beteiligt zu sein (Najbauer et al. 1993). Es gibt zwei Typen von Enzymen, die Argininreste methylieren, die Protein-Arginin-N-Methyltransferase I und II (PRMT I und PRMT II) (Ghosh et al. 1988; Tang et al. 2000). Diese Methylierung ist eine posttranslationale Proteinmodifikation, die in fast allen Zelltypen durch die Aktivität spezifischer Methyltransferasen unter Verwendung von S-Adenosylmethionin stattfindet (Aletta et al. 1998). Es gibt keine Hinweise, dass die freie Aminosäure L-Arginin durch diese Enzyme methyliert werden kann.

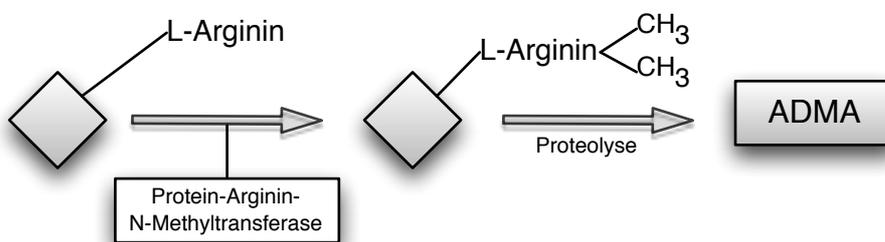


Abbildung 7: ADMA-Synthese durch die Protein-Arginin-N-Methyltransferase

Während PRMT I zur Bildung von ADMA und L-NMMA führt, führt PRMT II zur Bildung von SDMA (symmetrisches Dimethylarginin) und L-NMMA, wobei SDMA nicht die NOS inhibiert.

Die Expression der PRMTs, die S-Adenosylmethionin als Methylgruppendonor verwenden, wird in Gegenwart von nativem oder oxLDL verstärkt. Die Produktion von ADMA durch endotheliale Zellen wird in Gegenwart von Methionin oder Homocystein verstärkt und durch die PRMT-Inhibitoren S-Adenosylhomocystein, Adenosindialdehyd sowie Cycloleucin gehemmt (Böger et al. 2000 A).

Wenn die Proteine hydrolysiert werden, werden ihre methylierten Argininreste freigesetzt und mit dem Urin ausgeschieden (Kakimoto et Akazawa 1970; Leiper et Vallance 1999 A; Böger et al. 2000 A).

Deshalb sind bei Patienten mit renaler Insuffizienz die ADMA-Plasmaspiegel erhöht. Methylierte Arginine können aber auch metabolisiert werden. Der wichtigste Abbauweg für L-NMMA und ADMA ist das Enzym Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH), von welchem es zwei Isoformen, DDAH I und DDAH II, gibt, die bisher in jedem untersuchten Zelltyp gefunden worden sind und ADMA mittels Hydrolyse zu Citrullin und Dimethylarginin abbauen (Leiper et al. 1999 B).

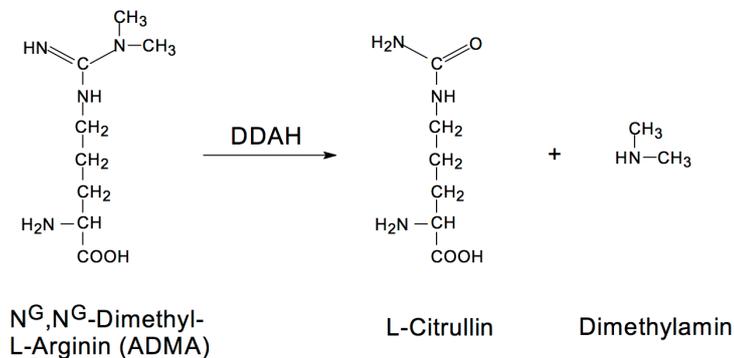


Abbildung 8: ADMA-Metabolisierung durch die Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase zu L-Citrullin und Dimethylamin

Erhöhte Plasmakonzentrationen an ADMA, die mit einer verschlechterten NO-Synthese verbunden sind, sind das erste Mal bei Patienten mit renaler Niereninsuffizienz von Vallance und Kollegen 1992 beschrieben worden (Valance et al. 1992). Seitdem hat sich gezeigt, dass erhöhte ADMA-Plasmakonzentrationen positiv mit dem Alter, dem mittleren arteriellen Druck, der Glucose-Toleranz und dem Grad der Atherosklerose korrelieren (Goonasekera et al. 1997; Miyazaki et al. 1999; Valkonen et al. 2001; Zoccali et al. 2002). Bei Gesunden befindet sich die mittlere Plasma-ADMA-Konzentration

zwischen 0,5 und 1 μM (Vallance et al. 1992; Abbasi et al. 2001). Bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren, sind die Plasma-ADMA-Konzentrationen typischerweise um das Zweifache erhöht (Böger et al. 1998 A). Ferner haben Patienten mit klinischer Atherosklerose oder terminaler Niereninsuffizienz bis zu 3,5- bis 10,4-fach erhöhte ADMA-Plasmakonzentrationen (Vallance et al. 1992; Böger et al. 1997; Schmidt et al. 1999; Al Banchaabouchi et al. 2000; Zoccali et al. 2002). Es hat sich bei Diabetikern mit ansonsten normalen ADMA-Plasmakonzentrationen gezeigt, dass eine typisch westlich-fettige Ernährung mit einer akuten 2,5-fachen Erhöhung der ADMA-Plasmakonzentration sowie einer tiefgreifenden endothelialen Dysfunktion assoziiert ist (Fard et al. 2000; Lin et al. 2002). Während erhöhte ADMA-Spiegel bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zumindest teilweise durch eine verminderte renale Exkretion erklärt werden können, ist bis jetzt die genaue Ursache erhöhter ADMA-Spiegel bei anderen Erkrankungen nicht bestimmt worden.

Eine Ursache könnte eine reduzierte Aktivität der Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) sein, welche ADMA zu Dimethylamin und L-Citrullin abbaut. Die Aktivität der DDAH kann durch erhöhte Konzentrationen an Homocystein oder Cholesterolemie gehemmt werden (Ito et al. 1999; Stühlinger et al. 2001). So hemmt Homocystein die DDAH-Aktivität, welche von oxidativem Stress negativ beeinflusst wird, indem es direkt die Sulfhydrylgruppen der DDAH angreift (Stühlinger et al. 2000). Diesem Effekt, der auch durch oxLDL oder TNF- α ausgelöst werden kann (Ito et al. 1999), lässt sich durch Gabe von Antioxidantien vorbeugen. Eine Hemmung dieses Enzyms führt zu erhöhten ADMA-Konzentrationen und führt zu Vasokonstriktion in isolierten arteriellen Ringen *in vitro* (MacAllister et al. 1996 A). Zudem kommt es zu einer gesteigerten endothelialen Superoxid-Radikal-Bildung (Lin et al. 1997). Transgene DDAH-Mäuse haben um 50% niedrigere ADMA-Konzentrationen als Wildtyp-Tiere (0,5 vs. 1,0 $\mu\text{mol/L}$; $p < 0,05$) sowie eine höhere Rate an NO-Produktion, einen niedrigeren systemischen Blutdruck und eine verminderte periphere vaskuläre Resistenz (Dayoub et al. 2003). Jacobi und Kollegen zeigten 2010 in transgenen ApoE(-/-)/hDDAH1(+/-)-Mäusen, daß es durch Überexprimierung der humanen Isoform 1 der DDAH zu einer verminderten ADMA-Konzentration und reduzierten Gefäßplaquebildung kam (Jacobi et al. 2010). DDAH ist in fast allen Körpergeweben nachweisbar, wobei die höchsten Konzentrationen in den Nieren und der Leber gefunden werden (Kimoto et al. 1995). Es gibt zwei Isoformen dieses Enzyms, DDAH-1 und DDAH-2, die unterschiedliche Expressionsmuster

aufweisen. DDAH-1 kommt in vielen Geweben vor, in denen auch nNOS exprimiert wird, während DDAH-2 hauptsächlich in vaskulären Gewebe neben koexprimierter eNOS vorhanden ist (Leiper et al. 1999 B). In vitro wird die DDAH-Aktivität durch TNF- α -induzierten oxidativen Stress oder oxidiertes LDL reduziert (Ito et al. 1999). Zudem wird sie durch S-Nitrosylierung moduliert (Leiper et al. 2002).

Es zeigte sich, dass erhöhte ADMA-Spiegel mit verschlechterter endothel-abhängiger Vasodilatation sowie reduzierter renaler Nitrat-Exkretion zusammenhängen (Gardiner et al. 1993; Böger et al. 1998 A). Intraarterielle Infusion von ADMA (8 und 16 $\mu\text{mol}/\text{min}$) bei gesunden Probanden verursachte eine signifikante, Dosis-abhängige Reduktion des Blutflusses im Unterarm (Calver et al. 1993). Da dieser Effekt durch Infusion eines Übermaßes an L-Arginin abgeschwächt werden konnte, wurde er der Verschlechterung der NOS-Aktivität durch ADMA zugeschrieben. Diese Ergebnisse bekräftigen die These, dass ADMA nicht nur ein Marker sondern auch eine Ursache der endothelialen Dysfunktion ist.

Ähnliche Ergebnisse bezüglich des vaskulären Tonus sind in vitro bei menschlichen Zerebralarterien erzielt worden (Segarra et al. 1999). Ansteigende ADMA-Konzentrationen von 1 $\mu\text{mol}/\text{l}$ bis 10 $\mu\text{mol}/\text{l}$ haben eine moderate Vasokonstriktion zerebraler Gefäße in situ verursacht (Faraci et al. 1995). Für zerebrales Gewebe ist errechnet worden, dass der IC_{50} -Wert für ADMA für die Hemmung der NO-Synthese zwischen 1,5 und 2,3 $\mu\text{mol}/\text{l}$ beträgt und damit im (patho-)physiologischen Konzentrationsbereich liegt (Faraci et al. 1995; Tsikas et al. 2000). Die unter physiologischen Bedingungen erreichten ADMA-Gewebskonzentrationen dürften für eine Hemmung der NO-Synthese ausreichend sein (Faraci et al. 1995; Segarra et al. 1999; Tsikas et al. 2000). Pikula und Kollegen zeigten 2009, daß erhöhte ADMA-Plasmaspiegel mit einer vermehrten Prävalenz subklinischer Hirninfarkte einhergingen (Pikula et al. 2009).

Da die ADMA-Konzentrationen, die bei Patienten mit Diabetes, Hyperlipoproteinämie, Niereninsuffizienz und kardiovaskulären Erkrankungen gemessen worden sind, hoch genug sind, um die endotheliale NO-Synthese zu beeinträchtigen, ist die Hypothese erstellt worden, dass erhöhte ADMA-Spiegel ebenfalls die penile NO-Herstellung und Funktion der glatten Muskulatur stören können. Folglich könnte ADMA für einen zusätzlichen Pathomechanismus der ED verantwortlich sein, welcher anderen

Erkrankungen zu Grunde liegt, die mit endothelialer und erektiler Dysfunktion einhergehen. In zahlreichen klinischen Untersuchungen ist durch den Zusatz von L-Arginin die mit erhöhten ADMA-Spiegeln assoziierte endotheliale Dysfunktion rückgängig gemacht worden (Drexler et al. 1991; Clarkson et al. 1996; Böger et Bode-Böger 2001). Im Kaninchenmodell der chronischen kavernösen Ischämie zeigte sich, dass eine verschlechterte Relaxation der glatten Muskulatur nicht mit der Fähigkeit des erektilen Gewebes, unter NO-Einfluß zu relaxieren, zusammenhing (Azadzoï et al. 1998). Stattdessen erschien sie mit einer verschlechterten NO-Produktion der Endothels zusammenzuhängen. In derselben Studie konnte eine Endothel-abhängige Relaxation, die durch eine Hypercholesterinämie beeinträchtigt war, komplett durch die Gabe von L-Arginin wiederhergestellt werden. Bei Tieren mit chronischer kavernöser Ischämie konnte durch die Gabe von L-Arginin nur teilweise die Endothel-abhängige Relaxation wiederhergestellt werden. Dies weist daraufhin, dass bei einer chronischen Ischämie weitere Abschnitte des NO-vermittelten Signalwegs beteiligt sein könnten. Ergebnisse aus klinischen Tests an Patienten mit erektiler Dysfunktion sind kontrovers (Chen et al. 1999; Klotz et al. 1999).

Nur bei Patienten mit einer anfangs reduzierten Nitrat-Exkretion (als Marker einer verminderten NO-Produktion) ist nach L-Arginin-Gabe von einer Verbesserung berichtet worden (Chen et al. 1999). Heute spielt L-Arginin eine unwesentliche Rolle in der Behandlung der ED. Erhöhte Plasma-ADMA-Konzentrationen bieten eine mögliche Erklärung für sich widersprechende Daten und mögen zu einem zweiten Blick auf die L-Arginin-Therapie bei ED ermutigen:

Es konnte gezeigt werden, dass L-Arginin eine durch methylierte L-Arginin-Analoga verschlechterte NO-Synthese wiederherstellen kann (Kim et al. 1991; Rajfer et al. 1992), inklusive ADMA (Vallanve et al. 1992; Azuma et al. 1995). Patienten mit erhöhten Plasma-ADMA-Spiegeln und erniedrigter NO-Produktion sollten mehr als andere von einer Behandlung mit L-Arginin profitieren. Es muß aber betont werden, dass eine Assoziation eines Faktors mit einer Krankheit nicht zwangsläufig einen Kausalzusammenhang impliziert (Edelman 2001).

In ihrem Review von 2009 gaben Böger und Kollegen einen Überblick über die aktuellen Daten prospektiver Studien, in denen ADMA-Plasmakonzentrationen in Populationen mit hohem, mittlerem und niedrigem vaskulären Risiko gemessen wurden. Die Hazard ratios waren auch nach multivariab-

len Angleichungen vergleichbar mit denen traditioneller kardiovaskulärer Risikomarker. Es wurde die Hypothese gestellt, daß ADMA ein geeigneter diagnostischer Marker für die Risikobewertung kardiovaskulärer Erkrankungen sei (Böger et al 2009 A).

Erhöhte ADMA-Plasmakonzentrationen sind prädiktiv bezüglich Mortalität and zukünftiger kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit (Zocalli et al. 2001; Schnabel et al. 2005) und ohne Risikofaktoren (Maas et al. 2007; Böger et al. 2009 B). 1997 konnte die Arbeitsgruppe um Böger zeigen, daß erhöhte ADMA-Plasmaspiegel in Relation zur Schwere einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) stehen (Böger et al. 1997). Überdies ist eine Erhöhung der ADMA-Konzentration prädiktiv für die Gesamtmortalität bei Patienten mit fortgeschrittener pAVK wie in einer prospektiven Studie 2006 nachwiesen wurde (Mittermayer et al. 2006). Aus der multizentrischen getABI-Studie schlußfolgerten Böger und Kollegen, daß ADMA ein unabhängiger Risikomarker bezüglich kardiovaskulärer Ereignisse und Gesamtmortalität bei Patienten mit und ohne pAVK ist (Böger et al. 2011).

Es sind bei Männern, die unter ED leiden, die ADMA-Plasmakonzentrationen bisher noch nicht untersucht worden. ADMA könnte aus zwei Gründen von besonderem Interesse für unter ED leidende Männer sein:

Zum einen haben mehrere Studien gezeigt, dass das Vorhandensein einer ED auf eine kardiovaskulären Erkrankung hinweist (Sullivan et al. 1999; Roumeguere et al. 2003). Aber in der Mehrheit der Fälle ist eine ED mit einer zu Grunde liegenden vaskulären Erkrankung assoziiert. Andere Ursachen wie Trauma oder psychogener Genese sind ebenfalls häufig (Anonymous 1992; Levine 2000). Hier könnte die Messung von ADMA helfen, Männer mit ED und zu Grunde liegender KHK von denen zu unterscheiden, die nur unter einer ED leiden.

Zum anderen könnte ADMA als NOS-Inhibitor selbst eine direkte Ursache von ED und KHK sein (Burnett 1997; Maas et al. 2002). Das Ziel dieser Arbeit ist es deshalb gewesen, die ADMA-Plasmakonzentration und ihren Vorhersagewert zum Vorhandensein einer KHK in Männern mit ED zu bestimmen.

3. Material und Methoden

3.1. Klinische Kriterien

Männer, die zu einer diagnostischen Untersuchung in der urologischen und kardiologischen Abteilung des Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf erschienen, wurden gefragt, ob sie Interesse an einer Teilnahme an der Studie hätten. Die Studie wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt und die schriftliche Einverständniserklärung wurde von allen Patienten und Kontrollprobanden eingeholt. Entsprechend dem Vorhandensein oder Fehlen einer ED traumatischen oder nicht-traumatischen Ursprungs und kardiovaskulären Erkrankung wurden die Patienten den vier folgenden Gruppen zugeteilt (die Kriterien für ED und KHK werden weiter unten beschrieben):

Patienten ohne ED (Kontrollgruppen):

- ohne KHK: Männer ohne klinische Anhaltspunkte für eine KHK oder ED
- KHK: Männer mit KHK, aber ohne ED

Patienten mit ED:

- ED-KHK: Männer mit KHK und nicht-traumatischer ED
- ED-ohne KHK: Männer mit ED, aber ohne klinische Anhaltspunkte für eine KHK

Allgemeine Ausschlusskriterien waren ein Alter unter 18 Jahren, Herzinsuffizienz (NYHA-Stadium II oder höher), Niereninsuffizienz, Anämie, akute Infektionen oder rheumatische Erkrankungen und ein akutes Koronarsyndrom oder nicht stabile Angina pectoris zum Zeitpunkt der Blutentnahme.

3.2. Einschätzung der erektilen Dysfunktion und kardiovaskulären Erkrankung

Die Stärke der erektilen Dysfunktion wurde ermittelt mittels einer verkürzten fünfteiligen Version des „International Index of Erectile Function“-Fragebogens (IIEF-5), einem validierten Selbsteinschätzungsfragebogen (Rosen et al. 1997; Rosen et al. 1999). Die mögliche Punktezahl reichte von 5 bis 25 Punkten. Ein Wert von 22-25 deutete auf eine normale erektile Funktion hin, während ein Wert von 21 oder niedriger auf eine ED hinwies (Rosen et al. 1999). Entsprechend dem IIEF-5 Wert konnte eine ED als schwer (5-7), moderat (8-11), mild bis moderat (12-16) oder mild (17-21) klassifiziert werden. Da berichtet wurde, dass nach direkten Messungen der penilen Funktion bei Männern mit einem IIEF Wert, der nur einer milden ED entsprach, sich diese nicht von denen bei Männern unterschied, deren IIEF Wert auf eine normale erektile Funktion hinwies (El-Sakka 2003), wurde ein IIEF-5 Wert von 16 als zusätzlicher Grenzwert für den Vergleich bei Männern mit KHK und/ohne ED verwendet. ED traumatischer Genese wurde definiert als beginnende ED, die nach einem operativen Eingriff oder Unfall bei Männern mit vorher normaler erektiler Funktion auftrat. Männer, die sowohl eine ED traumatischer Genese als auch eine zugrunde liegende KHK aufwiesen, wurden von der Studie ausgeschlossen. KHK wurde bei stabiler Angina pectoris oder Myokardinfarkt in der Anamnese sowie diagnostischen Kriterien für sich wiederholende myokardiale Ischämien (positives Belastungs-EKG, Beweis einer myokardialen Ischämie in der Thallium-Szintigraphie, Dokumentation einer Koronarstenose in der Koronarangiographie) angenommen. Hypercholesterinämie wurde definiert als LDL-Cholesterol $> 4,1$ mmol/l oder bei Einnahme von Statinen angenommen. Patienten, die einen Blutdruck $> 140/90$ mm Hg hatten oder antihypertensive Medikamente aufgrund einer vorherigen Diagnose einer Hypertension einnahmen, wurden als hypertensiv klassifiziert.

3.3. Klinische Chemie

3.3.1. Gewinnung und Lagerung des Plasmas

Das EDTA-Plasma (Nüchternblut) wurde direkt am Folgetag nach der Befragung des jeweiligen Patienten mittels IIEF-5 Fragebogens durch zehnmündige Zentrifugation bei 4°C und 4500 R/min gewonnen. Die Plasmaproben wurden zu 1000 µl aliquotiert. Die Lagerung erfolgte bei -20°C.

3.3.2. ADMA-Messung mit Hilfe der HPLC

Die ADMA- und L-Arginin-Konzentrationen im Plasma wurde mit Hilfe der Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) unter Verwendung einer Vorsäulenderivatisierung mit ortho-Phthaldialdehyd (OPA) bestimmt. Die HPLC-Methode beruhte auf einer leicht modifizierten Standardmethode (Böger et al. 1998 A; Sydow et al. 2003) und war gemäß den FDA-Standards validiert. Für die HPLC-Messung wurden 500 µl Plasma mit dem internen Standard L-Homoarginin (10 µM) versetzt und durch Aquabidest. auf ein Gesamtvolumen von 1 ml ergänzt. Gleichzeitig wurde ein externer Standard erstellt, welcher aus 50 µM L-Arginin, 10 µM Homoarginin, 1 µM ADMA und 1 µM SDMA bestand. CBA (carboxylic acid)-Kartuschen wurden zur Probenreinigung verwendet. Dies diente zur Elimination von unpolaren Aminosäuren und Proteinen. Nachdem die CBA-Kartuschen mit Methanol und Wasser vorkonditioniert waren, wurden Plasmaproben hinzugefügt. Anschließend wurde die CBA-Kartuschen zweimal mit Wasser gespült und abschließend mit 1 M Ameisensäure eluiert. Eine Trocknung der Eluate erfolgte mittels Speed Vac. Durch Hinzufügen von 400 µl Wasser wurden die Trocknungsrückstände resuspendiert und nach Vortexen eine Nacht bei 4°C gelagert. Zur HPLC-Messung wurden 100 µl resuspendierter Probe in die Autosamplergefäße pipettiert und in das HPLC-Gerät gestellt. 5 µl der jeweiligen Probe wurden vor der eigentlichen Chromatographie 30 s mit 100 µl OPA inkubiert. 5 µl des entstandenen Derivates wurden in die HPLC eingespritzt und isokratisch mit dem Eluenten A bei einem Fluss von 1 ml/min mit Hilfe einer Phenylsäule aufgetrennt. Die Detektion fand

mittels Fluoreszenzdetektor bei λ_{ex} = 342 nm und λ_{em} = 453 nm statt. Nach dreißigminütiger Laufzeit erfolgte eine zehnminütige Phenylsäulenspülung mit Eluent B. Die Peaks von L-Arginin, L-Homoarginin, SDMA und ADMA wurden mittels des Standards identifiziert und die Konzentration anhand des Peakflächenverhältnisses von Substanz zu internem Standard (L-Homoarginin) errechnet. Die Intraassay-Variabilität und die Interassay-Variabilität betragen 1,7% und 2,5%. Die Detektionsgrenze der Methode lag bei 4 nM für ADMA.

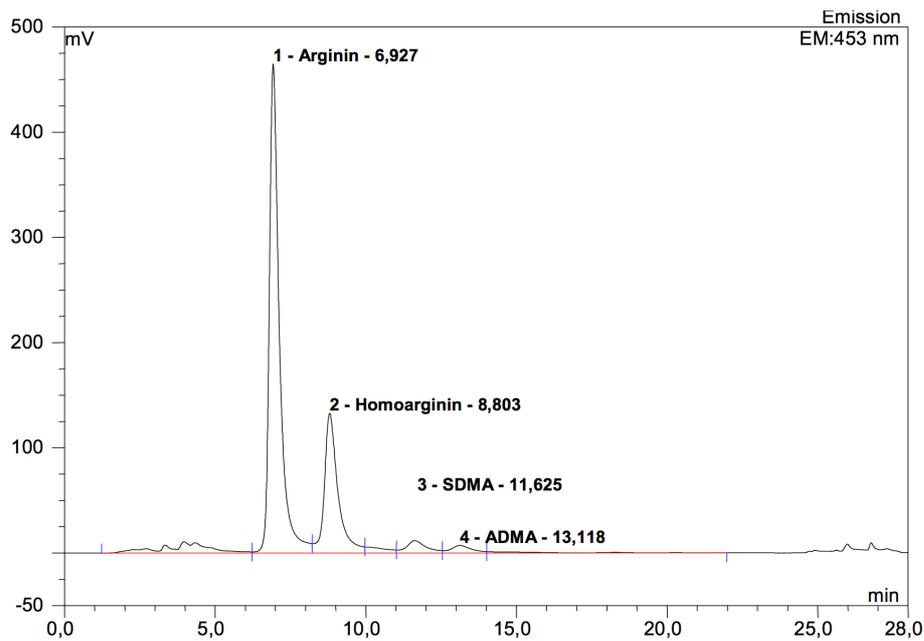


Abbildung 9: Hochdruckflüssigchromatogramm eines Standards bestehend aus L-Arginin, Homoarginin, SDMA und ADMA

3.4. Materialien

3.4.1. Chemikalien:

Ameisensäure/Merck (Darmstadt)

Citronensäure (wasserfrei)/Merck (Darmstadt)

L-Arginin/No. A-5131/Sigma (Deisenhofen)

L-Homoarginin/No. H-1007/Sigma (Deisenhofen)

Metahnol/Merck (Darmstadt)

N^G,N^G-Dimethyl-L-Arginin (SDMA)/No. D-0390/Sigma (Deisenhofen)

N^G,N^G-Dimethyl-L-Arginin (ADMA)/No. D-4268/Sigma (Deisenhofen)

ortho-Phthaldialdehyd (OPA)/Sigma (Deisenhofen)

3.4.2. HPLC-Laufpuffer:

Eluent A: pH 6,8 33,3 mM Citronensäure (wasserfrei)

33,3 % Methanol

Eluent B: 90% Methanol

3.4.3. Verbrauchsmaterialien:

Autosamplergefäße mit Rundbogen, Chromacol/Abimed (Langenfeld)

Bördelkappen N11 TB/oA/No. 70231/Macherey-Nagel (Düren)

Eppendorftubes (2 ml)/Eppendorf (Hamburg)

Säule CC250/4 Nucleosil 100-5-C6H6/No. 721861.40/Macherey-Nagel (Düren)

Vorsäule CC8/4 Nucleosil 100-5-C6H6/No. 721862.40/Macherey-Nagel (Düren)

SPE-Kartusche Bond Elut CBA/No. 1210-2038/Varian (Darmstadt)

Ultrazentrifugenröhrchen (30 ml)/Sorvall (Newton/USA)

3.4.4 Laborgeräte:

Digitalwaage/Mettler (Greifensee, Schweiz)

HPLC (P580 Pumpe, ASI 100 Autosampler, RF2000 Fluoreszenz-Detektor)/Dionex Softron GmbH
(Germering)

Kühltruhe (-20°C, -80°C)/Kryotec (Hamburg)

Magnetrührer/Heidolph (Kehlheim)

pH-Meter/Knick (Berlin)

Pipettus Accu-jet/Eppendorf (Hamburg)

Speed Vac Plus SC 110A/Savant

Tischzentrifuge/Eppendorf(Hamburg)

Ultrazentrifuge Centricon (T-2170)/Contron Instrumenets (Mailand/Italien)

Vakuumpumpe Mini-Vac E1/PeqLab (Erlangen)

Vakuumpumpe RZ5/Vaccubrand (Wertheim)

Wasserdeionierungsanlage/Millipore (Eschborn)

Zentrifuge Rotina 35R/Hettich (Tuttlingen)

3.5. Statistische Analyse

Die Stichprobengröße basierte auf dem Vergleich der ADMA-Plasmakonzentrationen bei Männern mit ED und zu Grunde liegender KHK und Männern nur mit ED ohne KHK mit einer anschließenden bivariaten logistischen Regressionsanalyse. Es wurde geschätzt, dass multivariate Modelle als Minimum 10 Patienten per Variable und Modalität für die Ergebnisvariable benötigten, weshalb wenigstens 50 Patienten per Gruppe benötigt wurden, um die Einbeziehung von fünf Variablen in das multivariate Modell zu ermöglichen. Die Eintragung von Patienten und Kontrollprobanden in die Arbeit wurde gestoppt, sobald wenigstens 50 Patienten in beiden ED-Gruppen erreicht wurden.

Alle Daten wurden auf eine normale Verteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Stetige Variable wurden als arithmetischer Mittelwert +/- Standardabweichung ausgedrückt, sofern sie normal verteilt waren oder andernfalls als Median mit 25% und 75% Perzentile. Entsprechend der Verteilung wurden parametrische (t-Test) und nicht parametrische Tests [Mann-Whitney-U (zweiseitig) und Kruskal-Wallis] zum Vergleich verwendet. Da alle Analysen mit Ausnahme der vorher festgelegten Variablen explorativ waren, wurde keine Korrektur des Fehler 1. Art durchgeführt. Sofern keine internationalen Referenzen, die die Grenzwerte definierten, vorhanden waren, wurden die stetigen Variablen in Tertiale für die univariate und multivariate Analyse aufgeteilt. Kategorisierte biochemische Kenngrößen und Risikofaktoren der KHK (Tertiale des Plasma-ADMA, Tertiale für Blutglukose oder Diabetes, HDL < 1 mmol/l, Hypertonie, Hypercholesterinämie und Rauchen) waren in den nicht bedingten logistischen Regresionsmodelle einbegriffen. Die Odds ratio und das 95% Konfidenzintervall wurden auf der Basis von Koeffizienten der logistischen Regressionmodelle berechnet. Für die statistische Analyse wurde das Programm SPSS Version 11.5 verwendet.

4. Ergebnisse

4.1. ADMA, L-Arginin und der L-Arginin/ADMA-Quotient bei Männern mit erektiler Dysfunktion

Klinische und biochemische Daten von 132 Patienten mit ED sind in Tabelle 2 dargestellt. Unterschiede in den Basiskenngrößen der Patientengruppen stehen in Einklang mit dem Vorhandensein oder Fehlen einer kardiovaskulären Erkrankung. Die IIEF-5-Punktwerte der ED-ohne KHK-Gruppe waren niedriger als die der ED-KHK-Gruppe. Dies kann auf 43 Männer dieser Gruppe zurück geführt werden, welche eine ED traumatischer Genese mit einem durchschnittlichen IIEF-5-Punktwert von 5.0 (5.0-7.0) hatten verglichen mit 33 Männern ED unklarer Genese mit einem durchschnittlichen IIEF-5-Punktwert von 16.0 (9.5-20.5), $p < 0.001$ in derselben Gruppe.

Merkmale von Männern mit erektiler Dysfunktion

	KHK	Ohne KHK ^{††}	p
Anzahl	56	76	...
Alter, y [§]	63.3 ± 9.0	60.8 ± 5.8	0.13
IIEF-5 Punktzahl [†]	12.6 (5.3-18.0)	8.0 (5.0-16.0)	0.07
BMI, kg/m ² [§]	27.7±3.7	26.1 ± 3.3	0.05
Arterieller Hypertonus [‡]	37 (66.1)	23 (30.3)	<0.01
Hypercholesterinämie [‡]	39 (69.6)	26 (34.2)	<0.01
Plasmalipide, mmol/l [#]			
Gesamtcholesterin [†]	4.8 (4.1-5.5)	5.6 (5.0-6.3)	<0.01
LDL [†]	2.9 (2.1-3.5)	3.4 (2.9-4.0)	<0.01
HDL [†]	1.1 (1.0-1.4)	1.4 (1.2-1.7)	<0.01
Triglyceride [†]	1.5 (1.1-2.5)	1.7 (1.2-2.6)	0.39
Diabetes oder Nüchtern glukose ≥6.1 mmol/l [‡]	25 (44.6)	12 (15.7)	<0.01
Blutzucker, mmol/l ^{†,§§}	5.6 (5.2-7.2)	5.1 (4.7-5.7)	<0.01
Raucher			
ehemalig [‡]	14 (25.0)	11 (14.5)	0.18
aktuell [‡]	13 (23.2)	7 (9.2)	0.03
Herzkreislaufmedikation			
Statine [‡]	30 (53.67)	6 (7.9)	<0.01
Antihypertonika ^{‡&}	28 (50.0)	18 (23.7)	<0.01

[#] Um die Werte für Gesamtcholesterin, LDL und HDL in mg/dl umzurechnen, wurde durch 0,02586 dividiert; um die Triglycerid-Werte in mg/dl umzurechnen, wurde durch 0,0129 dividiert

[†] N (%), exact test

[§] Mean (±SD), t-test

^{§§} Um die Glukose-Werte in mg/dl umzurechnen, wurde durch 0,0129 dividiert

[†] Median (25%-75t% Perzentile), Mann-Whitney-U Test

^{††} Bei 43 Patienten war die ED traumatisch bedingt, bei 33 Männern konnte keine Ursache für ED identifiziert werden

[&] Betablocker, Angiotensinrezeptorblocker, ACE-Hemmer, Diuretika, Calciumkanalblocker

Tabelle 2: ADMA-Plasmakonzentration in Männern ohne klinischen Hinweis für KHK oder ED (ohne KHK), in Männern mit KHK aber ohne ED (KHK), in Männern mit KHK und nicht-traumatischer ED (ED-KHK) und in Männern mit ED aber ohne klinischen Hinweis für KHK (ED-ohne KHK)

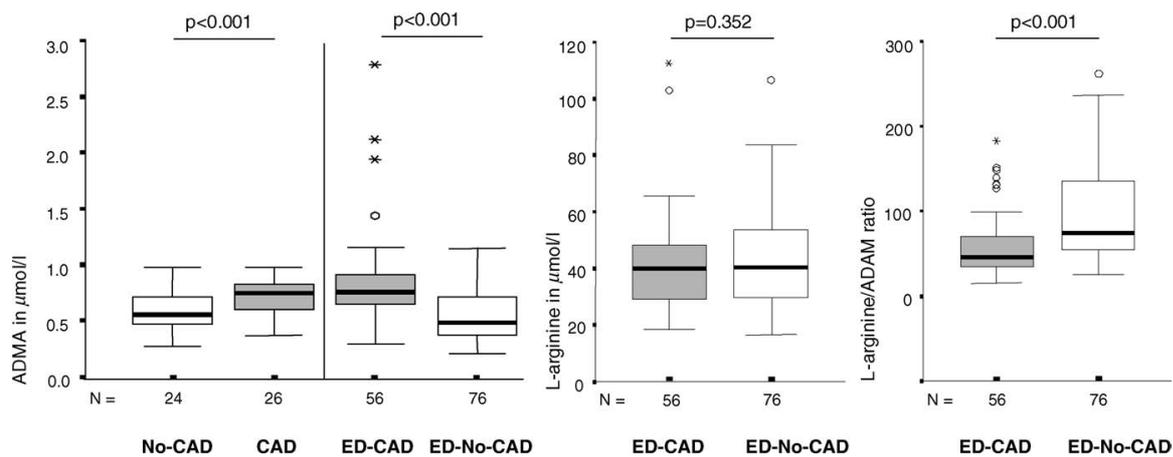


Abbildung 10: ADMA-Plasmakonzentration in Männern ohne klinischen Hinweis für KHK oder ED (ohne KHK), in Männern mit KHK aber ohne ED (KHK), in Männern mit KHK und nicht-traumatischer ED (ED-KHK) und in Männern mit ED aber ohne klinischen Hinweis für KHK (ED-ohne KHK). L-Arginin-Plasmakonzentration und L-Arginin/ADMA-Quotient in Männern mit ED mit (ED-KHK) und ohne KHK (ED-ohne KHK).

Wie in Abbildung 10 gezeigt wird, waren die ADMA-Plasmakonzentrationen in der ED-KHK-Gruppe beträchtlich höher als in der ED-ohne KHK-Gruppe: $0,76$ ($0,65$ - $0,91$) $\mu\text{mol/l}$ vs. $0,49$ ($0,36$ - $0,71$) $\mu\text{mol/l}$, $p < 0,001$. Gleichermäßen war der L-Arginin/ADMA-Quotient in der ED-KHK-Gruppe vermindert verglichen mit der ED-ohne KHK-Gruppe, $45,9$ ($34,9$ - $70,3$) vs. $74,3$ ($55,2$ - $136,1$), $p < 0,001$. Die L-Arginin-Plasmakonzentration unterschied sich nicht: $39,8$ ($29,1$ - $48,0$) $\mu\text{mol/l}$ in der ED-KHK-Gruppe vs. $40,5$ ($29,5$ - $54,1$) $\mu\text{mol/l}$ in der ED-ohne KHK-Gruppe, $p = 0,35$.

In einem zweiten Schritt wurde eine multiple logistische Regressionsanalyse mit KHK als abhängiger Variable und Tertile von ADMA ($< 0,48$, $0,48$ - $0,75$, $> 0,75$), Hypertonie, Hypercholesterinämie und HDL-Cholesterol $< 1\text{mmol/l}$ als prädiktive Variable (Tabelle 3) durchgeführt.

	Odds ratio (95% CI)†	P
Hypercholesterinämie	3.5 (1.4 – 8.8)	0.007
Arterieller Hypertonus	3.9 (1.6 – 9.7)	0.003
Diabetes oder Nüchtern glukose > 6.1mmol/l	3.4 (1.2-9.2)	0.017
HDL < 40 mg/dl (1 mmol/l)	3.6 (1.1 – 12.0)	0.034
ADMA in $\mu\text{mol/l}$ (Tertile)		<0.001
< 0.48	1‡	‡
0.48 – 0.75	3.3 (1.1-10.3)	0.041
> 0.75	8.7 (2.8 –27.2)	<0.001

* Ein schrittweises KHK-Risikofaktoren-beinhaltenes altersadaptiertes Modell bei 132 Patienten mit ED (56 mit und 76 ohne KHK).

† Bereinigt um Variablen, ‡ Referenz.

Tabelle 3: Odds ratios für das Vorhandensein von KHK bei Männern mit erektiler Dysfunktion (ED) aus einem multivariaten logistischen KHK-Risikofaktoren-beinhaltenen Regressionsmodell *

In diesem Modell blieb ADMA ein starker und unabhängiger Marker für das Vorhandensein einer KHK. Die odds ratios für die zweite und dritte Tertile verglichen mit der niedrigsten Tertile für die ADMA-Plasmakonzentration betragen jeweils 3,3 (95% CI, 1,1-10,3; $p=0,041$) und 8,7 (95% CI, 2,8-27,2; $p<0,001$). Unter Verwendung kontinuierlicher Variablen betrug die hazard ratio pro 0,1 $\mu\text{mol/l}$ Zunahme der ADMA-Plasmakonzentration 1,43 (95% CI, 1,2-1,7; $p<0,001$).

Diese Ergebnisse wurden in drei alternativen logistischen Regressionsmodellen (einschließlich Raucherstatus (A), Tertilen der Nüchtern glukose (B) oder Tertilen des Alterns (C) statt $\text{HDL}<1\text{mmol/l}$) bestätigt. In diesen Modellen betrug die odds ratio der höchsten Tertile für die ADMA-Plasmakonzentration jeweils 10,9 (95% CI, 3,4-35,7; $p<0,001$), 9,0 (95% CI, 2,9-28,3; $p<0,001$) und 9,5 (95% CI, 3,0-30,2; $p<0,001$) für die Modelle A, B und C.

4.2. ADMA, L-Arginin und der L-Arginin/ADMA-Quotient bei Männern mit KHK

Um einen besseren Vergleich dieser Daten bezüglich ADMA in Männern mit ED mit vorher veröffentlichten Daten hinsichtlich ADMA bei Patienten mit KHK oder gesunden Kontroll-Probanden zu erhalten, wurden 50 Männer ohne ED in die Arbeit aufgenommen. Gemäß des kardiovaskulären Status wurde diese Kontrollgruppe weiter unterteilt in eine Gruppe aus 24 Männern ohne KHK (ohne KHK) und eine Gruppe aus 26 Männern mit KHK (KHK). Die klinischen und biochemischen Daten werden in Tabelle 4 gezeigt.

Wie beim Vergleich von Patienten mit ED hatten Männer mit KHK signifikant erhöhte ADMA-Plasmakonzentrationen verglichen mit Männern ohne KHK: $0,74$ ($0,60-0,82$) $\mu\text{mol/l}$, $p=0,01$ vs. $0,55$ ($0,46-0,72$) $\mu\text{mol/l}$ ADMA. Die mittlere L-Arginin-Plasmakonzentration betrug in der ohne KHK-Gruppe $54,7$ ($27,2-62,1$) $\mu\text{mol/l}$ verglichen mit $38,7$ ($29,7-57,3$) $\mu\text{mol/l}$ in der KHK-Gruppe ($p=0,40$). Der Trend zu einem niedrigeren L-Arginin/ADMA-Quotienten bei Männern mit KHK in Höhe von $51,2$ ($37,5-75,3$) verglichen mit $82,1$ ($37,3-120,5$) in der ohne-KHK-Gruppe erreichte keine statistische Signifikanz ($p=0,54$).

Merkmale von Männern ohne erektile Dysfunktion

	KHK	Ohne KHK	p
Anzahl	26	24	...
Alter, y [§]	57.8 ± 10.1	59.2 ± 6.0	0.54
IIEF-5 Punktzahl [†]	24.0 (23.0-25.0)	24.3 (23.3-25.0)	0.18
BMI, kg/m ² [§]	27.0 ± 3.9	25.9 ± 3.9	0.41
Arterieller Hypertonus [‡]	16 (61.5)	1 (4.1)	<0.01
Hypercholesterinämie [‡]	18 (69.2)	5 (20.8)	<0.01
Plasmalipide, mmol/l [#]			
Gesamtcholesterin [†]	4.4 (3.5-5.2)	5.3 (4.7-5.9)	0.02
LDL [†]	2.7 (2.0-3.8)	2.8 (2.4-3.5)	0.82
HDL [†]	0.9 (0.7-1.1)	1.4 (1.2-1.9)	<0.01
Triglyceride [†]	1.4 (1.1-2.3)	1.3 (1.0-2.2)	0.60
Diabetes oder Nüchtern glukose ≥ 6.1 mmol/l [‡]	4 (15.4)	2 (8.3)	0.67
Blutzucker, mmol/l ^{†,§§}	5.3 (4.9-5.8)	4.8 (4.4-5.3)	0.01
Raucher			
ehemalig [‡]	6 (23.10)	2 (8.3)	0.25
aktuell [‡]	5 (20.8)	5 (19.2)	1.00
Herzkreislaufmedikation			
Statine [‡]	12 (46.2)	3 (12.5)	0.01
Antihypertonika ^{‡&}	12 (46.2)	3 (12.5)	0.01

[#] Um die Werte für Gesamtcholesterin, LDL und HDL in mg/dl umzurechnen, wurde durch 0,02586 dividiert; um die Triglycerid-Werte in mg/dl umzurechnen, wurde durch 0,0129 dividiert

[‡] N (%), exact test

[§] Mean (±SD), t-test

^{§§} Um die Glukose-Werte in mg/dl umzurechnen, wurde durch 0,0129 dividiert

[†] Median (25%-75t% Perzentile), Mann-Whitney-U Test

Tabelle 4: Merkmale und Risikofaktoren bei Männern ohne erektiler Dysfunktion

Um zu untersuchen, ob entweder bei Männern mit KHK das Vorhandensein einer ED assoziiert war mit einer weiteren Zunahme von ADMA oder einer weiteren Abnahme des L-Arginin/ADMA-Quotienten, wurden die ADMA-Plasmakonzentration und der L-Arginin/ADMA-Quotient der KHK-Gruppe mit der ED-KHK-Gruppe verglichen. Der Trend zu einer Erhöhung von ADMA und einer Reduktion des L-Arginin/ADMA-Quotienten in der ED-KHK-Gruppe erreichte keine statistische Signifikanz (Tabelle 5a). Auf rein explorativer Basis sollte untersucht werden, ob der beobachtete Trend bei Patienten mit einer schwereren Form einer ED zunehmen würde. Für diese zweite Analyse wurden deshalb alle 132 Patienten und 50 Kontrollen neu gruppiert, wobei eine konservativere Definition für

die Präsenz einer ED (der Grenzwert wurde als milde bis moderate ED, definiert als IIEF-5-Punktwert ≤ 16 gesetzt) verwendet wurde. Beim Vergleich der neuen KHK- und ED-KHK-Gruppen, der auf der konservativeren Definition einer ED basierte, erreichte der Trend zu einer Erhöhung von ADMA in Patienten mit einem IIEF-5-Punktwert ≤ 16 immer noch keine Signifikanz. Dennoch war der L-Arginin/ADMA-Quotient signifikant niedriger bei Patienten mit höheren IIEF-5-Punktwerten (Tabelle 5b).

ADMA, L-Arginin und ADMA/L-Arginin ratio in Relation zu ED and KHK

Tabelle 5a		Konventioneller Grenzwert für ED gesetzt bei IIEF-5 score ≤ 21				
		Gruppe			p [§] Ohne KHK vs. KHK vs. ED-KHK	p [#] KHK vs. ED-KHK
		Ohne KHK	KHK	ED-KHK		
Anzahl		24	26	56		
ADMA $\mu\text{mol/l}$		0.55 (0.46-0.72)	0.74 (0.60-0.82)	0.75 (0.64-0.91)	0.007	0.470
L-Arginin $\mu\text{mol/Z}$		54.7 (27.2-62.1)	38.8 (29.7-57.3)	39.8 (29.1-48.0)	0.355	0.661
L-Arginin/ADMA ratio		82.1 (37.3-120.5)	51.2 (37.5-75.3)	45.9 (34.9-70.3)	0.040	0.375
Tabelle 5b		Explorative Analyse mit Grenzwert für ED gesetzt bei einem eher konservativen IIEF-5 score ≤ 16				
		Gruppe*			p [§] Ohne KHK vs. KHK vs. ED-KHK	p [#] KHK vs. ED-KHK
		Ohne KHK	KHK	ED-KHK		
Anzahl		42	46	36		
ADMA $\mu\text{mol/l}$		0.52 (.44-0.71)	0.75 (0.60-0.88)	0.76 (0.65-0.90)	<0.001	0.705
L-Arginin $\mu\text{mol/l}$		40.6 (8.6-60.1)	43.7 (30.9-52.3)	33.8 (26.9-43.3)	0.112	0.036
L-Arginin/ADMA ratio		79.2 (51.1-107.8)	54.8 (43.9-74.0)	38.5 (32.8-57.1)	0.001	0.015

[§] Kruskal-Wallis Test, alle drei Gruppen vergleichend

[#] Mann-Whitney-U Test

* Unterschiede in der Anzahl von Patienten und Kontrollen beruhten auf der Reklassifikation von KHK- und Ohne-KHK-Patienten, die zuvor als ED-KHK- bzw. ED-ohne KHK-Patienten klassifiziert waren.

Tabelle 5 a/b: ADMA,- L-Arginin und ADMA/L-Arginin ratio in Relation zu ED and KHK

5. Diskussion:

5.1. ADMA als Risikomarker für KHK bei Männern mit ED

Bei der Auswertung der ADMA-Plasmakonzentrationen bei Männern mit ED zeigte sich eine beträchtliche Erhöhung von ADMA bei Männern mit zu Grunde liegender KHK.

Der L-Arginin/ADMA-Quotient war ebenso signifikant niedriger bei Männern mit zu Grunde liegender KHK obgleich die absolute Differenz weniger ausgeprägt war. Die multivariaten Analysen bestätigten, dass eine Erhöhung der ADMA-Plasmakonzentration eine starke und unabhängige Vorhersage für das Vorhandensein einer KHK ermöglichte. Dieser simple Befund mag von beträchtlicher praktischer Bedeutung sein, da häufig vorgeschlagen worden ist, dass eine erektile Dysfunktion als ein auf eine KHK hindeutendes Geschehen auftreten kann (Roumeguere et al. 2003). Im klinischen Alltag mögen viele ED-Patienten eher einen Urologen als einen Kardiologen konsultieren. Da weniger als die Hälfte der Männer (wie in dieser Arbeit), die eine ED aufweisen, eine zu Grunde liegende KHK haben mögen, werden Faktoren gesucht, die bei der Identifizierung dieser Patienten helfen, die eine weitere kardiologische Diagnostik benötigen. Um die Sensitivität und Spezifität bewerten zu können, die durch Zusatz von ADMA zu den konventionellen Risikofaktoren erworben wurde, wurde eine ROC (receiver operated curve) Analyse durchgeführt. Die Area under curve der ROC, die auf dem Zusatz der Hauptrisikofaktoren der KHK (Hypercholesterämie, Hypertonie und niedriges HDL-Cholesterol) basierte, betrug 0,767 ($p < 0,001$) verglichen mit 0,830 ($p < 0,001$), wenn Tertilen von ADMA umfassten. Betrachtet man ADMA als einen potentiellen Risikomarker, um eine zu Grunde liegende KHK bei Männern mit ED zu identifizieren, so muß man als mögliche Beschränkung bedenken, dass in dieser Arbeit Männer mit dokumentierter KHK mit Männern ohne klinischen Nachweis für eine KHK miteinander verglichen wurden. Es war nicht Aufgabe der Arbeit, eine klinisch stumme kardiovaskuläre Erkrankung mittels extensiver sowie invasiver Diagnostik zu identifizieren und auszuschließen. In der Mehrzahl der teilnehmenden Patienten wurde eine klinische signifikante KHK durch den regelmäßigen Check-up oder durch die Vorbereitung eines nicht mit der Arbeit zusammenhängenden elektiven operativen Eingriffs ausgeschlossen. Zudem war bei der Mehrheit der Patienten mit dokumentierter KHK diese bei Studieneintritt klinisch asymptomatisch (Nur bei 9 Patienten (16,1%) in der Gruppe ED-KHK benötigten Nitrate als Angina-Prophylaxe).

5.2. Die potentielle pathophysiologische Rolle von ADMA und der L-Arginin/ADMA Ratio bei erektiler Dysfunktion

Es muß betont werden, dass man keinen Kausalzusammenhang aus Beobachtungsdaten ableiten kann, wie sie in dieser Arbeit erzielt wurden. Trotzdem könnte eine weitere Erhöhung von ADMA oder eine weitere Abnahme des L-Arginin/ADMA-Quotienten bei Vorhandensein einer ED die Hypothese unterstützen, dass ADMA als endogener NOS-Inhibitor direkt in der Pathophysiologie der ED beteiligt ist (Burnett 1997; Maas et al. 2002). Diese Hypothese wurde in einem Tiermodell (Masuda et al. 2002) bestätigt. Bis jetzt fehlten aber Untersuchungsergebnisse vom Menschen.

Auf den ersten Blick kann diese Hypothese nicht durch die Arbeit bestätigt werden: Der Vergleich der ADMA-Plasmakonzentration bei Männern mit und ohne ED zeigte, dass die Erhöhung von ADMA bei Vorhandensein einer KHK sehr ähnlich war (Abb. 10 und Tabelle 5a und b).

Vergleichbare Unterschiede bei dem L-Arginin/ADMA-Quotienten waren nicht signifikant. Dies erlaubt zwei Interpretationen:

Erstens: Da gezeigt werden konnte, dass ADMA bei zahlreichen Risikofaktoren, die mit KHK [Cooke 2004] und ED [Maas et al. 2002] assoziiert sind, erhöht ist, liefern die Daten dieser Arbeit einen weiteren starken Anhaltspunkt für die enge Beziehung zwischen KHK und vaskulär bedingter ED.

Zweitens: Der direkte Einfluss von ADMA oder des L-Arginin/ADMA-Quotienten als einzelner Faktor auf die ED mag relativ gering sein. Insbesondere die Störung der NO-Synthese bei vaskulären Erkrankungen ist wahrscheinlich multifaktoriell.

Aus verschiedenen Gründen müssen die negativen Ergebnisse bezüglich des direkten Einfluss von ADMA und des L-Arginin/ADMA-Quotienten auf die erektile Dysfunktion mit Vorsicht interpretiert werden, da die gemessene ADMA-Plasmakonzentration nicht unbedingt die lokale Gewebskonzentration widerspiegelt. Zudem ist es in Situationen, in denen biochemische Parameter bereits verändert sind (KHK), schwieriger, weitere Änderungen festzustellen, was zu einer Zunahme der benötigten

Probenzahl und falsch-negativen Ergebnissen führt. Unter diesen Umständen mögen Unterschiede entdeckt werden, wenn man die Extreme betrachtet:

Um dieses Problem anzugehen, wurde eine zweite Analyse durchgeführt, bei der eine weit fortgeschrittene erektile Dysfunktion als Grenzwert verwendet wurde. Nun veränderte sich das Bild ein wenig: Männer mit einer schwereren ED zeigten eine stärkere Verminderung des

L-Arginin und des L-Arginin/ADMA-Quotienten als Männer ohne oder mit nur leichter ED, während die ADMA-Level ähnlich waren (Tab. 5b). Während man an den explorativen Charakter dieser Beobachtung denken muß, lenkt sie die Aufmerksamkeit auf den L-Arginin/ADMA-Quotienten (der Quotient aus NOS-Substrat und endogenem Inhibitor). Wie kann ADMA trotz einer etwa 50-fach höheren zellulären L-Arginin-Konzentration kompetitiv die NO-Synthese beeinflussen? Hierbei muß bedacht werden, dass die relative Enzymaffinität von ADMA und L-Arginin zur NOS im penilen Gewebe nicht bekannt ist. Zudem hat sich in vivo gezeigt, dass es durch einen Anstieg der L-Arginin-Konzentration im Plasma zu einer gesteigerten NO-Produktion kommt.

Dies ist überraschend, da L-Arginin in Säugetierzellen in Konzentrationen gefunden wird, die bei weitem die $K(M)$ -Werte der bis jetzt am besten untersuchten NO-Synthase übersteigt. Das Vorhandensein von ADMA könnte dieses scheinbare L-Arginin-Paradoxon erklären, da der L-Arginin/ADMA-Quotient mit der NO-Synthese korreliert [Tsikas et al. 2000]. Während in Gegenwart höherer Konzentrationen von L-Arginin, dem Substrat der NOS, eine Erhöhung der ADMA-Konzentration kaum Einfluß auf die NOS-Aktivität hat, nimmt die Wirkung des ADMA auf die NOS bei einer Verminderung der Substrat-Konzentration zu. Die Verfügbarkeit von L-Arginin hängt von der Ernährung, zellulären Transportmechanismen sowie der Aktivität um das L-Arginin konkurrierender Enzyme wie der Arginase ab. Eine kürzlich veröffentlichte Studie zeigte, daß das Corpus cavernosum von Diabetikern mit ED höhere Konzentrationen des Arginase II-Proteins und eine verstärkte Genexpression sowie Enzymaktivität als normales menschliches kavernoöses Gewebe aufwies [Bivalacqua et al. 2001]. Ferner zeigte eine Inhibition der Arginase-Aktivität durch 2(S)-Amino-6-Borhexansäure (ABH) eine signifikante Verbesserung der Relaxation der glatten Muskelzellen des Corpus cavernosum, was zu der Vermutung führte, daß eine Arginase-Inhibition zu hohen L-Arginin-Konzentrationen für die NO-Synthese führt [Cox et al. 1999; Masuda 2008].

Hier könnten die Beobachtungen der Arbeit als Anhaltspunkt für eine reduzierte systemische Verfügbarkeit von L-Arginin bei Männern mit ED und zu Grunde liegender KHK gedeutet werden. Solch eine systemische Verminderung von L-Arginin könnte durch diätetische Maßnahmen angegangen werden. Ergebnisse aus klinischen Studien zur Gabe von L-Arginin bei Patienten mit ED sind dennoch kontrovers [Chen et al. 1999; Klotz et al. 1999]. Nur Patienten mit anfänglich verminderter Nitratausscheidung als Marker einer verschlechterten NO-Synthese berichteten von einer Verbesserung [Klotz et al. 1999]. Die Unterschiede bei der ADMA-Konzentration und dem L-Arginin/ADMA-Quotienten, die bei dieser Studie bei unterschiedlichen Subgruppen von Männern mit ED gefunden worden sind, mögen eine Erklärung für diese Ergebnissen liefern:

Bei Männern mit ED und zu Grunde liegender KHK scheint ADMA bevorzugt erhöht (und der L-Arginin/ADMA-Quotient erniedrigt) zu sein. Nur bei Männern dieser Subgruppe könnte man einen Nutzen einer L-Arginin-Ergänzung erwarten, während eine weitere Erhöhung der L-Arginin-Konzentration bei Männern mit einem normalen oder erhöhten L-Arginin/ADMA-Quotienten nur einen geringen positiven Einfluß erwarten lassen würde.

6. Zusammenfassung

Asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin (ADMA) ist als ein endogener NO-Synthaseinhibitor anzusehen. Erhöhte ADMA-Konzentrationen wurden u.a. bei Patienten mit KHK, Hypercholesterinämie, chronischer Herz- und Niereninsuffizienz, peripherer arterieller Verschlusskrankheit sowie arterieller Hypertonie nachgewiesen. Prospektive und Fall-Kontroll-Studien lassen ADMA als neuen kardiovaskulären Risikomarker bzw. -faktor zunehmend an Bedeutung gewinnen. Neueste Ergebnisse beschreiben ADMA als einen unabhängigen Risikomarker bezüglich kardiovaskulärer Ereignisse und Gesamt mortalität bei Patienten mit und ohne pAVK.

Ziel dieser Arbeit war die Plasmakonzentration von ADMA und seinen Vorhersagewert für das Vorhandensein einer KHK bei Männern mit ED zu bestimmen. Die Hypothese, daß ADMA bei vaskulärbedingter ED signifikant erhöht ist, bestätigte sich nicht. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß eine Erhöhung der ADMA-Plasmakonzentration eine starke und unabhängige Vorhersage für das Vorhandensein einer KHK ermöglichte.

Klinisch ist die Einschätzung einer erektilen Dysfunktion mit wenigen Kosten und keinen Risiken verbunden.

Urologen und Allgemeinmediziner sollten ein besonderes Augenmerk auf die erektile Dysfunktion haben und bei ihrem Vorhandensein und Hinweisen auf eine vaskuläre Ursache eine weitere kardiologische Abklärung zur Erstellung eines kardiovaskulären Risikos in Erwägung ziehen.

7. Abkürzungsverzeichnis

ADMA	N ^G ,N ^G -Dimethyl-L-Arginin
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
°C	Grad Celsius
cAMP	cyclisches Adenosin-5'-monophosphat
CBA	carboxylic acid
cGKI	cGMP-abhängige Kinase
cGMP	cyclisches Guanosin-5'-monophosphat
DDAH	Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase
ED	erektile Dysfunktion
EDRF	endothelium derived relaxing factor
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase
FAD	Flavin-adenin-dinucleotid
FDA	Food and Drug Administration
FMN	Flavin-adenin-mononucleotid
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
HPLC	high performance liquid chromatography
IIEF-5	International Index of Erectile Function
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase
KHK	koronare Herzkrankheit
l, ml, µl	Liter, Milliliter, Mikroliter
LDL	low-density lipoprotein
L-NAME	N ^G -Nitro-L-Arginin-Methylester
L-NMMA	N ^G -Monomethyl-L-Arginin
L-NNA	N ^G -Nitro-L-Arginin
M, mM, µM	molar, millimolar, mikromolar

min	Minute
mol, mmol, μ mol	Mol, Millimol, Mikromol
NA	Noradrenalin
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
nNOS	nervale Stickstoffmonoxidsynthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxidsynthase
OPA	ortho-Phthaldialdehyd
oxLDL	oxidized low-density lipoprotein
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
PRMT	Protein-Arginin-N-Methyltransferase
R	Umdrehung
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
SDMA	N^G, N^G -Dimethyl-L-Arginin
SPE	solid phase extraction
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α

8. Literaturverzeichnis

Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Stuehlinger M, Tsao PS (2001) Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 88: 1201-203

Abdel-Gawad M, Huynh H, Brock GB (1999 A) Experimental chronic renal failure-associated erectile dysfunction: molecular alterations in nitric oxide synthase pathway and IGF-I system. *Mol Urol* 3: 117-25

Abdel-Gawad M, Huynh H, Brock GB (1999 B) The impact of chronic renal failure on nitric oxide synthase isoforms gene expression in the penis and pelvic ganglia of rats. *J Urol* 162: 1473-79

Adams MR, Kinlay S, Blake GJ, Orford JL, Ganz P, Selwyn AP (2000) Atherogenic lipids and endothelial dysfunction: mechanisms in the genesis of ischemic syndromes. *Annu Rev Me* 51: 149-67

Ahn GJ, Chung HK, Lee CH, Kang KK, Ahn BO (2009) Increased expression of the nitric oxide synthase gene and protein in corpus cavernosum by repeated dosing of udenafil in a rat model of chemical diabetogenesis. *Asian J Androl* 11(4):435-42

Aktoz T, Aktoz M, Tatlı E, Kaplan M, Turan FN, Barutcu A, Atakan IH, Demir M, Altun A (2010) Assessment of the relationship between symmetric dimethylarginine and severity of erectile dysfunction and coronary artery disease. *Int Urol Nephrol* 42(4):873-9

Al Banchaabouchi M, Marescau B, Possemiers I, D'Hooge R, Levillain O, De Deyn DP (2000) NG,NG-dimethylarginine and NG,N^oG-dimethylarginine in renal insufficiency. *Pflugers Arch* 439: 524-31

Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG (2001) Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 357: 593-615

Aletta JM, Cimato TR, Ettinger MJ (1998) Protein methylation: a signal event in post-translational modification. *Trends Biochem Sci* 23: 89-91

Alheid U, Frölich JC, Förstermann U (1987) Endothelium-derived relaxing factor from cultured human endothelial cells inhibits aggregation of human platelets. *Thromb Res* 47:561-71

Anderssohn M, Schwedhelm E, Lüneburg N, Vasan RS, Böger RH (2010) Asymmetric dimethylarginine as a mediator of vascular dysfunction and a marker of cardiovascular disease and mortality: an intriguing interaction with diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res* 7(2):105-18

Andrew PJ, Mayer B (1999) Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 43: 521-531

Anonymous (1992) Impotence. *NIH Consens Statement* 10(4):1-33

Araujo AB, Travison TG, Ganz P, Chiu GR, Kupelian V, Rosen RC, Hall SA, McKinlay JB (2009) Erectile dysfunction and mortality. *J Sex Med* 6(9):2445-54

Araujo AB, Hall SA, Ganz P, Chiu GR, Rosen RC, Kupelian V, Travison TG, McKinlay JB (2010) Does erectile dysfunction contribute to cardiovascular disease risk prediction beyond the Framingham risk score? *J Am Coll Cardiol* 55(4):350-6

Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F (1977) Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 3203-207

Ayta IA, McKinlay JB, Krane RJ (1999) The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. *BJU Int.* 84:50-56

Azadzoï KM, Goldstein I, Siroky MB, Traish AM, Krane RJ, Saenz de Tejada (1998) Mechanisms of ischemia-induced cavernosal smooth muscle relaxation impairment in a rabbit model of vasculogenic erectile dysfunction. *J Urol* 160: 2216-22

Azuma H, Sato J, Hamasaki H, Sugimoto A, Isotani E, Obayashi S (1995) Accumulation of endogenous inhibitors for nitric oxide synthesis and decreased content of L-arginine in regenerated endothelial cells. *Br J Pharmacol* 115: 1001-1004

Bauer PM, Buga GM, Ignarro LJ (2001) Role of p42/p44 mitogen-activated-protein kinase and p21waf1/chip 1 in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation by nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 12802-807

Beckman JS, Koppenol WH (1996) Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol Cell* 271: C1424-37

Billups KL (2005) Sexual dysfunction and cardiovascular disease: integrative concepts and strategies. *Am J Cardiol* 96: 57M-61M

Billups KL, Bank AJ, Padma-Nathan H, Katz SD, Williams RA (2008) Erectile dysfunction as a harbinger for increased cardiometabolic risk. *Int J Impot Res* 20:236-42

Bivalacqua TJ, Hellstrom WJ, Kadowitz PJ, Champion HC (2001) Increased expression of arginase II in human diabetic corpus cavernosum: in diabetic-associated erectile dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun* 283: 923-27

Bloch W, Klotz T, Sedlacek P, Zumbe J, Engelmann U, Addicks K (1998) Evidence for the involvement of endothelial nitric oxide synthase from smooth muscle cells in the erectile function of the human corpus cavernosum. *Urol Res* 26: 129-35

Böger RH, Bode-Böger SM, Mügge A, Kienke S, Brandes R, Dwenger A, Frölich JC (1995) Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis* 117(2):273-84

Böger RH, Bode-Böger SM, Frölich JC (1996) The L-arginine-nitric oxide pathway: role in the atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis* 127: 1-11

Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC (1997) Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 95: 2068-74

Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP (1998 A) Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 98(18): 1842-7

Böger RH, Bode-Böger SM, Kienke S, Stan AC, Nafe R, Frölich JC (1998 B) Dietary L-arginine decreases myointimal cell proliferation and vascular monocyte accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*. 1998 Jan;136(1):67-77

Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, Tsikas D, Bode-Boger SM (2000 A) LDL cholesterol upregulates syntheses of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 87: 99-105

Böger RH, Bode-Böger SM (2000 B) Asymmetric dimethylarginine, derangements of the endothelial nitric oxide synthase pathway, and cardiovascular diseases. *Semin Thromb Hemost* 26: 539-45

Böger RH, Bode-Böger SM (2001) The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41: 79-99

Böger RH, Maas R, Schulze F, Schwedhelm E (2009 A) Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a prospective marker of cardiovascular disease and mortality--an update on patient populations with a wide range of cardiovascular risk. *Pharmacol Res* 60(6):481-7

Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, Schulze F, Xanthakis V, Bendorf RA, Vasan RS (2009 B) Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation* 119(12):1592-600

Böger RH, Endres HG, Schwedhelm E, Darius H, Atzler D, Lüneburg N, von Stritzky B, Maas R, Thiem U, Bendorf RA, Diehm C (2011) Asymmetric dimethylarginine as an independent risk marker for mortality in ambulatory patients with peripheral arterial disease. *J Intern Med* 269(3):349-61

Bundesärztekammer (2011) Nationale Versorgungsleitlinie KHK.
<http://www.khk.versorgungsleitlinien.de>

Burnett AL, Lowenstein CJ, Brecht DS, Chang DS, Snyder SH (1992) Nitric oxide: a physiologic mediator of penile erection. *Science* 257: 401-403

Burnett AL, Nelson RJ, Calvin DC, Liu JX, Demas GE, Klein SL, Kriegsfeld LJ, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH (1996) Nitric oxide-dependent penile erection in mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Mol Med* 2: 288-96

Burnett AL (1997) Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. *J Urol* 157(1): 320-24

Burnett AL, Chang AG, Chrone JK, Huang PL, Sezen SE (2002) Noncholinergic penile erection in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *J Androl* 23: 92-97

Bush PA, Aronson WJ, Buga GM, Rajfer J, Ignarro LJ (1992) Nitric oxide is a potent relaxant of human and rabbit corpus cavernosum. *J Urol* 147: 1650-65

Calver A, Collier J, Leone A, Moncada S, Valance P (1993) Effect of local intra-arterial asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the forearm arteriolar bed of healthy volunteers. *J Hum Hypertens* 7: 193-94

- Cama E, Colleluori DM, Emig FA, Shin H, Kim SW, Kim NN, Traish AM, Ash DE, Christianson DW (2003) Human arginase II: crystal structure and physiological role in male and female sexual arousal. *Biochemistry* 42(28):8445-51
- Chen J, Wollman Y, Chernichovsky T, Laina A, Sofer M, Matzkin H (1999) Effect of oral administration of high dose nitric oxide donor L-arginine in men with organic erectile dysfunction: results of a double blind, randomized, placebo controlled study. *BJU Int* 83: 267-73
- Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, Donald AE, McCredie R, Robinson J, McCarthy SN, Keech A, Celermajer DS, Deanfield JE (1996) Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 97: 1989-94
- Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Förstermann U (1997) Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y⁺ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide* 1: 65-73
- Cooke JP, Rossitch E Jr, Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ (1991) Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest* 88: 1663-1671
- Cooke JP, Dzau VJ (1997) Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases. *Circulation* 96: 397-82
- Cooke JP, Oka R (2001) Atherogenesis And The Arginine Hypothesis. *Curr Atheroscler Rep* 3: 252-259
- Cooke JP (2004) Asymmetrical dimethylarginine: the über marker? *Circulation* 109(15): 1813-8
- Cooke JP (2005) ADMA: its role in vascular disease. *Vascular Medicine* 10: S11-17
- Cox JD, Kim NN, Traish AM, Christianson DW (1999) Arginase-boronic acid complex highlights a physiological role in erectile function. *Nat Struct Biol* 6: 1043-47
- Crabos M, Coste P, Paccalin M, Tariosse L, Daret D, Besse P, Bonoron-Adele S (1997) Reduced basal NO-mediated dilation and decreased endothelial NO-synthase expression in coronary vessels of spontaneously hypertensive rats. *J Mol Cell Cardiol* 29: 55-65
- Dail WG, Barba V, Leyba L, Galindo R (1995) Neural and endothelial nitric oxide synthase activity in rat penile erectile tissue. *Cell Tissue Res* 282: 109-16

Dayoub H, Achan V, Adimoolam S, Jacobi J, Stühlinger MC, Wang BY, Tsao PS, Kimoto M, Vallance P, Patterson AJ, Cooke JP (2003) Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation* 108: 3042-3047

Dean RC, Lue TF (2005) Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am* 32(4): 379-95

De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr, Shin WS, Liao JK (1995) Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 96: 60-68

Deves R, Boyd CA (1998) Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure and function. *Physiol Rev* 78: 487-545

Dimmeler S, Hermann C, Galle J, Zeiher AM (1999) Upregulation of superoxide dismutase and nitric oxide synthase mediates the apoptosis-suppressive effects of shear stress on endothelial cells. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 19: 656-64

Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H (1991) Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet* 338: 1546-50

Edelman ER (2001) On causes: Hippocrates, Aristotle, Robert Koch, and the Dread Pirate Roberts. *Circulation* 104: 2509-12

Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Kuga T, Urabe Y, Takeshita A (1993 A) Effects of age on endothelium-dependent vasodilatation of resistance coronary artery by acetylcholine in humans. *Circulation* 88: 77-81

Egashira K, Inou T, Hirooka Y, Yamada A, Maruoka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Takeshita A (1993 B) Impaired coronary blood flow response to acetylcholine in patients with coronary risk factors and proximal atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 91: 29-37

El-Sakka AI (2003) Association between International Index of Erectile Function and axial penile rigidity in patients with erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 15(6): 426-9

Escrig A, Marin R, Abreu P, Luis Gonzalez-Mora J, Mas M (2002) Changes in mating behaviour, erectile function, and nitric oxide levels in penile corpora cavernosa in streptozotocin-diabetic rats. *Biol Reprod* 66: 185-89

Faraci FM, Brian JE, Heistad DD (1995) Response of cerebral blood vessels to an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Am J Physiol* 269: H1522-27

Fard A, Tuck CH, Donis JA, Sciacca R, Di Tullio MR, Wu HD, Bryant TA, Chen NT, Torres-Tamayo M, Ramasamy R, Berglund L, Ginsberg HN, Homma S, Cannon PJ (2000) Acute elevations of plasma asymmetric dimethylarginine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 2039-44

Fedele D, Coscelli C, Cucinotta D, Forti G, Santeusanio F, Viaggi S, Fiori G, Velonà T, Lavezzari M; Dia-de Study Group (2001) Incidence of erectile dysfunction in Italian men with diabetes. *J Urol* 166: 1368-71

Feldman HA, Goldstein I, Hatzichritou DG, Krane RJ, McKinlay JB (1994) Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol* 151:54-61

Feldman HA, Johannes CB, Derby CA, Kleinman KP, Mohr BA, Araujo AB, McKinlay JB (2000) Erectile dysfunction and coronary risk factors: prospective results from the Massachusetts Male Aging Stud. *Prev Med* 30: 328-38

Ferrini M, Magee TR, Vernet D, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF (2001) Aging-related expression of inducible nitric oxide synthase and markers of tissue damage in the rat penis. *Biol Reprod* 2001; 64: 974-82

Ferrini MG, Rivera S, Moon J, Vernet D, Rajfer J, Gonzalez-Cadevid NF (2010) The genetic inactivation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) intensifies fibrosis and oxidative stress in the penile corpora cavernosa in type 1 diabetes. *J Sex Med* 7(9):3033-44

Förstermann U, Mülsch A, Böhme E, Busse R (1986) Stimulation of soluble guanylate cyclase by an acetylcholine-induced endothelium-derived relaxing factor from rabbit and canine arteries. *Circ Res* 58:531-8

Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H (1994) Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 23(6 Pt 2):1121-31

Förstermann U, Boissel JP, Kleinert H (1998) Expressional control of the „constitutive“ isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III). *FASEB J* 12: 773-90

- Fung MM, Bettencourt R, Barrett-Connor E (2004) Heart disease risk factors predict erectile dysfunction 25 years later: the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol* 43: 1405-11
- Furchgott RF, Zawadzki JV (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288: 373-376
- Ganz P (2005) Erectile dysfunction: pathophysiologic mechanisms pointing to underlying cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 96: 8M-12 M
- Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RMJ, Moncada S (1993) Regional and cardiac haemodynamic effects of NG,NG dimethyl-L-arginine and their reversibility by vasodilators in conscious rats. *Br J Pharmacol* 110: 1457-64
- Garg UC, Hassid A (1989) Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 83: 1774-1777
- Gazzaruso C, Solerte SB, Pujia A, Coppola A, Vezzoli M, Salvucci F, Valenti C, Giustina A, Garzaniti A (2008) Erectile dysfunction as a predictor of cardiovascular events and death in diabetic patients with angiographically proven asymptomatic coronary artery disease: a potential protective role for statins and 5-phosphodiesterase inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 51: 2040-4
- Ghosh SK, Paik WK, Kim S (1988) Purification and molecular identification of two protein methylases I from calf brain. Myelin basic protein- and histone-specific enzyme. *J Biol Chem* 263: 19024-19033
- Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA (1998) Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med* 338: 1397-404
- Goligorsky MS, Noiri E, Tsukahara H, Budzikowski AS, Li H (2000) A pivotal role of nitric oxide in endothelial cell dysfunction. *Acta Physiol Scand* 168; 33-40
- Gonzalez-Cadavid NF, Burnett AL, Magee TR, Zeller CB, Vernet D, Smith N, Gitter J, Rajfer J (2000) Expression of penile neuronal nitric oxide synthase variants in the rat and mouse penile nerves. *Biol Reprod* 63: 704-14
- Goonasekera CD, Rees DD, Woolard P, Friend A, Shah V, Dillon MJ (1997) Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens* 15: 901-909

Green JS, Holden ST, Ingram P, Bose P, St George DP, Bowsher WG (2001) An Investigation of erectile dysfunction in Gwent. *BJU Int.* 88:551-53

Greenstein A, Chen J, Miller H, Matzkin H, Villa Y, Braf Z (1997) Does severity of ischemic coronary disease correlate with erectile dysfunction? *Int J Impot Res* 9: 123-126

Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S (1986) Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 320: 454-56

Guay AT (2007) ED2: erectile dysfunction = endothelial dysfunction. *Endocrinol Metab Clin North Am* 36: 453-63

Haas CA, Seftel AD, Razmjouei K, Ganz MB, Hampel N, Ferguson K (1998) Erectile dysfunction in aging: upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Urology* 51: 516-22

Harrison DG (1997) Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest* 100: 2153-57

Hedlund P, Aszodi A, Pfeifer A, Alm P, Hofmann F, Ahmad M, Fassler R, Andersson KE (2000 A) Erectile Dysfunction in cyclic GMP-dependent kinase I-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 2349-54

Hedlund P, Ny L, Alm P, Andersson KE (2000 B) Cholinergic nerves in human corpus cavernosum and spongiosum contain nitric oxide synthase and heme oxygenase. *J Urol* 164: 868-75

Heitzer T, Just H, Münzel T (1996) Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation* 94: 6-9

Heitzer T, Brockhoff C, Mayer B, Warnholtz A, Mollnau H, Henne S, Meinertz T, Munzel T (2000) Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation in chronic smokers: evidence for a dysfunctional nitric oxide synthase. *Circ Res* 86: E36-41

Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T (2001) Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 104: 2673-78

Heller R, Unbehau A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER (2001) L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 276: 40-47

Hirata K, Miki N, Kuroda Y, Sakoda T, Kawashima S, Yokoyama M (1995) Low concentration of oxidized low-density lipoprotein and lysophosphatidylcholine upregulate constitutive nitric oxide synthase mRNA expression in bovine aortic endothelial cells. *Circ Res* 76: 958-62

Hogg N, Kalyanaraman B, Joseph J, Struck A, Parthasarathy S (1993) Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis. *FEBS Lett* 334(2):170-4

Holmquist F, Hedlund H, Andersson KE (1991 A) L-NG-nitroarginine inhibits non-adrenergic, non-cholinergic relaxation of human isolated corpus cavernosum. *Acta Physiol Scand* 141: 441-42

Holmquist F, Steif CG, Jonas U, Andersson KE (1991 B) Effects of the nitric oxide synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine on the erectile response to cavernous nerve stimulation in the rabbit. *Acta Physiol Scand* 143: 299-304

Huang PL, Dawson TM, Bredt DS, Snyder SH, Fishman MC (1993) Targeted disruption of the neuronal nitric oxide synthase gene. *Cell* 75: 1273-86

Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G (1987) Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9265-9269

Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J (1990) Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 170: 843-50

Inman BA, Sauver JL, Jacobson DJ, McGree ME, Nehra A, Lieber MM, Roger VL, Jacobsen SJ (2009) A population-based, longitudinal study of erectile dysfunction and future coronary artery disease. *Mayo Clin Proc* 84: 108-13

Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP (1999) Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 99: 3092-95

Jackson G, Padley S (2008) Erectile dysfunction and silent coronary artery disease: abnormal computed tomography coronary angiogram in the presence of normal exercise ECGs. *Int J Clin Pract* 62: 973-6

Jacobi J, Maas R, Cardounel AJ, Arend M, Pope AJ, Cordasic N, Heusinger-Ribeiro J, Atzler D, Strobel J, Schwedhelm E, Böger RH, Hilgers KF (2010) Dimethylarginine dimethylaminohydrolase overexpression ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice by lowering asymmetric dimethylarginine. *Am J Pathol.* 2010: 176(5):2559-70

Jensen J, Lendorf A, Stimpel H, Frost J, Ibsen H, Rosenkilde P (1999) The prevalence and etiology of impotence in 101 male hypertensive outpatients. *Am J Hypertens* 12: 271-75

Jeremy JY, Angelini GD, Khan M, Mikhailidis DP, Morgan RJ, Thompson CS, Bruckdorfer KR, Naseem (2000) Platelets, oxidant stress and erectile dysfunction: an hypothesis. *Cardiovasc Res* 46: 50-54

Kakimoto Y, Akazawa S (1970) Isolation and identification of NG,NG- and NG,NG-Dimethyl-arginine, N-Mono-, Di-, and trimethyllysine, and gluco-Sylgalactosul- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem* 245: 5751-5758

Kelm M, Rath J. Endothelial dysfunction in human coronary circulation: relevance of the L-arginine-NO pathway (2001) *Basic Res Cardiol* 2001; 96: 107-27

Khan MA, Thompson CS, Emsley AM, Mumtaz FH, Mikhailidis DP, Angelini GD, Morgan RJ, Jeremy JY (1999) The interaction of homocysteine and copper markedly inhibits the relaxation of rabbit corpus cavernosum: new risk factors for angiopathic erectile dysfunction? *BJU Int* 84: 720-24

Khan MA, Thompson CS, Mumtaz FH, Mikhailidis DP, Morgan RJ, Bruckdorfer RK, Naseem KM (2001) The effect of nitric oxide and peroxy-nitrite on rabbit cavernosal smooth muscle relaxation. *World J Urol* 19: 220-24

Kim N, Azadzi KM, Goldstein I, Saenz de Tejada I (1991) A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J Clin Invest* 88: 112-18

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

Klotz T, Mahers MJ, Braun M, Bloch W, Engelmann U (1999) Effectiveness of oral L-arginine in first-line treatment of erectile dysfunction in a controlled crossover study. *Urol Int* 63: 220-23

Kobayashi N, Yanaka H, Tojo A, Kobayashi K, Matsuoka H (1999) Effects of amlodipine on nitric oxide synthase mRNA expression and coronary microcirculation in prolonged nitric oxide blockade-induced hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 34: 173-81

Krumenacker JS, Hanafy KA, Murad F (2004) Regulation of nitric oxide and soluble guanylyl cyclase. *Brain Res Bull* 62: 505-15

- Kubes P, Suzuki M, Granger DN (1991) Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:4651-5
- Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK (1998) Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation* 97: 1129-35
- Leiper J, Vallance P (1999 A) Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 43: 542-48
- Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, Vallance P (1999 B) Identification of two human dimethylarginine dimethyl-aminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J* 343: 209-214
- Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P (2002) S-Nitrosylation of dimethylarginine dimethyl-aminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 13527-13532
- Leitinger N, Oguogho A, Rodrigues M, Sinzinger H (1995) The effect of NO/EDRF and monocytes / macrophages on LDL-oxidation. *J Physiol Pharmacol* 46(4): 385-408
- Levine LA (2000) Diagnosis and treatment of erectile dysfunction. *Am J Med* 109(9 suppl 1):3-12
- Liao JK, Shin WS, Lee WY, Clark SL (1995) Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 270: 319-24
- Lin PS, Böger RH, Bode-Böger SM, Tsao PS, Cooke JP (1997) Asymmetric dimethylarginine enhances superoxide production in human endothelial cells. *Circulation* 96 (suppl.): I-45
- Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM, Cooke JP (2002) Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 106(8):987-92
- Lue TF (2000) Erectile dysfunction. *N Engl J Med* 342: 1802-13
- Lue TF (2002) Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ, editors. *Campbell's Urology*. Philadelphia (PA): Saunders 1591-618

- Maas R, Schwedhelm E, Albsmeier J, Böger RH (2002) The pathophysiology of erectile dysfunction related to endothelial dysfunction and mediators of vascular function. *Vasc Med* 7(3): 213-25
- Maas R, Schulze F, Baumert J, Löwel H, Hamraz K, Schwedhelm E, Koenig W, Böger RH (2007) Asymmetric dimethylarginine, smoking, and risk of coronary heart disease in apparently healthy men: prospective analysis from the population-based Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease/Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg study and experimental data. *Clin Chem* 53(4):693-701
- MacAllister RJ, Parry H, Kimoto MT, Russell RJ, Hodson H, Whitley GS, Vallance P (1996 A) Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 119: 1533-1540
- MacAllister RJ, Rambašek MH, Vallance P, Williams D, Hoffmann KH, Ritz E (1996 B) Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 11: 2449-52
- McCulloch DK, Campbell IW, Wu FC, Prescott RJ, Clarke BF (1980) The prevalence of diabetic impotence. *Diabetologia* 18: 279-83
- McDowell IF, Lang D (2000) Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease. *J Nutr* 130: 369-72S
- MacMillan-Crow LA, Crow JP, Kerby JD, Beckman JS, Thompson JA (1996) Nitration and inactivation of manganese superoxide dismutase in chronic rejection of human renal allografts. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 11853-58
- Marin R, Escrig A, Abreu P, Mas M (1999) Androgen-dependent nitric oxide release in rat penis correlates with levels of constitutive NOS isoenzymes. *Biol Reprod* 61: 1012-18
- Martin-Morales A, Sanchez-Cruz JJ, Saenz de Tejada I, Rodriguez-Vela L, Jimenez-Cruz JF, Burgos-Rodriguez R (2001) Prevalence and independent risk factors for erectile dysfunction in Spain: results of the Epidemiologia de la Disfuncion Erectil Masculina study. *J Urol* 166: 569-74
- Martinez Portillo FJ, Jünemann KP, Alken P (2001) Erektile Dysfunktion .Hautmann R, Huland H. *Urologie*. Springer-Verlag 366-369

Masuda H, Tsujii T, Okuno T, Kihara K, Goto M, Azuma H (2002) Accumulated endogenous NOS inhibitors, decreased NOS activity, and impaired cavernosal relaxation with ischemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 282(6): R1730-8

Masuda H, Yano M, Sakai Y, Kihara K, Yamauchi Y, Azuma H (2004) Modulation of intrinsic cavernous tone and nitric oxide production by arginase in rabbit corpus cavernosum. *J Urol* 171(1):490-4

Masuda H (2008) Significance of nitric oxide and its modulation mechanisms by endogenous nitric oxide synthase inhibitors and arginase in the micturition disorders and erectile dysfunction. *Int J Urol* 15(2): 128-134

Mayer B, John M, Heinzl B, Werner ER, Wachter H, Schultz G, Böhme E (1991) Brain nitric oxide synthase is a bipterin- and flavin-containing multi-functional oxido-reductase. *FEBS Lett* 288: 187-191

Maytin M, Leopold J, Loscalzo J (1999) Oxidant stress in the vasculature. *Curr Atheroscler Rep* 1: 156-64

Michel T, Feron O (1997) Nitric oxide synthase: which, where, how, and why? *J Clin Invest* 100: 2146-52

Mittermayer F, Krzyzanowska K, Exner M, Mlekusch W, Amighi J, Sabeti S, Minar E, Müller M, Wolzt M, Schillinger M (2006) Asymmetric dimethylarginine predicts major adverse cardiovascular events in patients with advanced peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (11):2536-40

Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T (1999) Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 99: 1141-46

Moncada S, Higgs A (1993) The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329: 2002-12

Moncada S (1997) Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. *Ann NY Acad Sci* 881: 60-69

Montorsi F, Briganti A, Salonia A, Rigatti P, Margonata A, Macchi A, Galli S, Ravagnani PM, Montorsi P (2003 A) Erectile dysfunction prevalence, time of onset and association with risk factors in 300 consecutive patients with acute chest pain and angiographically documented coronary artery disease. *Eur Urol* 44(3): 360-5

Montorsi P, Montorsi F, Schulman CC (2003 B) Is erectile dysfunction the "tip of the iceberg" of a systemic vascular disorder? *Eur Urol* 44(3): 352-4

Montorsi P, Ravagnani PM, Galli S, Rotatori F, Briganti A, Salonia A, Rigatti P, Montorsi F (2005) The artery size hypothesis: a macrovascular link between erectile dysfunction and coronary artery disease. *Am J Cardiol* 96: 19M-23M

Montorsi P, Ravagnani PM, Galli S, Rotatori F, Veglia F, Briganti A, Salonia A, Deho F, Rigatti P, Montorsi F, Fiorentini C (2006) Association between erectile dysfunction and coronary artery disease. Role of coronary clinical presentation and extent of coronary vessels involvement: the COBRA trial. *Eur Heart J* 27: 2632-9

Moreira ED Jr, Abdo CH, Torres EB, Lobo CF, Fittipaldi JA (2001) Prevalence and correlates of erectile dysfunction: results of the Brazilian study of sexual behavior. *Urology* 58: 583-88

Morris ST, McMurray JJ, Spiers A, Jardine AG (2001) Impaired endothelial function in isolated human uremic resistance arteries. *Kidney Int* 60: 1077-82

Murohara T, Kugiyama K, Ohgushi M, Sugiyama S, Yasue H (1994) Cigarette smoke extract contracts isolated porcine coronary arteries by superoxide anion-mediated degradation of EDRF. *Am J Physiol* 266: H874-80

Najbauer J, Johnson BA, Young AL, Aswad DW (1993) 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* 268: 10501-10509

Napoli C, Ignarro LJ (2001) Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide* 5:88-97

Ni Z, Vaziri ND (2001) Effect of salt loading on nitric oxide synthase expression in normotensive rats. *Am J Hypertens* 14: 155-63

Niolosi A, Moreira ED Jr, Shirai M, Bin Mohd Tambi MI, Glasser (2003) Epidemiology of erectile dysfunction in four countries: cross-national study of the prevalence and correlates of erectile dysfunction. *Urology* 61(1): 201-6

NIH consensus development panel on impotence (1993) NIH consensus conference: impotence. *JAMA* 270: 83-60

Numao N, Masuda H, Sakai Y, Okada Y, Kihara K, Azuma H (2007) Roles of attenuated neuronal nitric oxide synthase protein expression and accelerated arginase activity in impairing neurogenic relaxation of corpus cavernosum in aged rabbits. *BJU Int* 99(6):1495-9

Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of the endothelium derived-relaxing factor. *Nature* 327: 524-26

Palmer RM, Asthon DS, Moncada S (1988 A) Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333: 664-66

Palmer RM, Rees DD, Asthon DS, Moncada S (1988 B) L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 153: 1251-56

Palmer BF (1999) Sexual dysfunction in uraemia. *J Am Soc Nephrol* 10:1381-88

Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA (1993) Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation* 87: 1468-74

Papapetropoulos A, Rudic RD, Sessa WC (1999) Molecular control of nitric oxide synthases in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 43: 509-520

Parazzini F, Menchini Fabris F, Bortolotti A, Calabrò A, Chatenoud L, Colli E, Landoni M, Lavezzari M, Turchi P, Sessa A, Mirone V (2000) Frequency and determinants of erectile dysfunction in Italy. *Eur Urol* 37: 43-49

Pickard RS, Powell PH, Zar MA (1991) The effect of inhibitors of nitric oxide biosynthesis and cyclic GMP formation on nerve-evoked relaxation of human cavernosal smooth muscle. *Br J Pharmacol* 104: 755-59

Pikula A, Böger RH, Beiser AS, Maas R, DeCarli C, Schwedhelm E, Himali JJ, Schulze F, Au R, Kelly-Hayes M, Kase CS, Vasan RS, Wolf PA, Seshadri S (2009) Association of plasma ADMA levels with MRI markers of vascular brain injury: Framingham offspring study. *Stroke* 40(9):2959-64

Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E (1986) Crucial role of endothelium in the vasodilatator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 8: 37-44

Pollock JS, Förstermann U, Mitchell JA, Warner TD, Schmidt HHHW, Nakane M, Murad F (1991) Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 10480-10484

Ponholzer A, Temml C, Obermayr R, Wehrberger C, Madersbacher S (2005) Is erectile dysfunction an indicator for increased risk of coronary heart disease and stroke? *Eur Urol* 48: 512-8

Pou S, Pou WS, Bredt DS, Snyder SH, Rosen GM (1992) Generation of super-oxide by purified brain nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 267: 24173-24176

Pritchard KA Jr, Groszek L, Smalley DM, Sessa WC, Wu M, Villalon P, Wolin MS, Stemerman MB (1995) Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ Res* 77: 510-518

Procci WR, Goldstein DA, Adelstein J, Massry SG (1981) Sexual dysfunction in the male patient with uraemia: a reappraisal. *Kidney Int* 19: 317-23

Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ (1992) Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med* 326: 90-94

Rees D, Palmer R, and Moncada S (1986) Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci* 86: 3375-3378

Rosas SE, Joffe M, Franklin E, Strom BL, Kotzker W, Brensinger C, Grossman E, Glasser D, Feldman HI (2001) Prevalence and determinants of erectile dysfunction in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 59: 2259-66

Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A (1997) The International index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology* 49(6): 822-30

Rosen RC, Cappelleri JC, Smith MD, Lipsky J, Pena BM (1999) Development and evaluation of an abridged, 5-item version of the International Index of Erectile Function (IIEF-5) as a diagnostic tool for erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 11(6): 319-26

Roumeguere T, Wespes E, Carpentier Y, Hoffmann P, Schulman CC (2003) Erectile dysfunction is associated with a high prevalence of hyperlipidemia and coronary heart disease risk. *Eur Urol* 44(3): 355-9

Rubanyi GM, Vanhoutte PM (1986) Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 250: 822-827

Rubanyi GM (1993) The role of the endothelium in cardiovascular homeostasis and disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 22 (suppl): S1-S4

Schlenker B, Matiasek K, Saur D, Gratzke C, Bauer RM, Herouy Y, Arndt C, Blesch A, Hartung R, Stief CG, Weidner N, May F (2010) Effects of cavernous nerve reconstruction on expression of nitric oxide synthase isoforms in rats. *BJU Int* 106(11): 1726-31

Schmidt RJ, Domico J, Samsell LS, Yokota S, Tracy TS, Sorkin MI, Engels K, Baylis C (1999) Indices of activity of the nitric oxide system in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 34: 228-34

Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, Lackner KJ, Rupprecht HJ, Espinola-Klein C, Jachmann N, Post F, Peetz D, Bickel C, Cambien F, Tiret L, Münzel T (2005) Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ Res* 97(5):e53-9

Schouten BW, Bohnen AM, Bosch JL, Bernsen RM, Deckers JW, Dohle GR, Thomas S (2008) Erectile dysfunction prospectively associated with cardiovascular disease in the Dutch general population: results from the Krimpen Study. *Int J Impot Res* 20: 92-9

Schwedhelm E, Böger RH (2011) The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. *Nat Rev Nephrol* 7(5):275-285

Segarra G, Medina P, Ballester RM, Lluch P, Aldasoro M, Vila JM, Lluch S, Pelligrino DA (1999) Effects of some guanidino compounds on human cerebral arteries. *Stroke* 30: 2206-11

Singel DJ, Stamler JS (2005) Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin. *Annu Rev Physiol* 67: 99-145

Siu SC, Lo SK, Wong KW, Ip KM, Wong YS (2001) Prevalence of and risk factors for erectile dysfunction in Hong Kong diabetic patients. *Diabet Med* 18: 732-38

Solomon H, Man JW, Jackson G (2003 A) Erectile dysfunction and the cardiovascular patient: endothelial dysfunction is the common denominator. *Heart* 89(3):251-3

Solomon H, Man JW, Wierzbicki AS, Jackson G (2003 B) Relation of erectile dysfunction to angiographic coronary artery disease. *Am J Cardiol* 91: 230-1

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

Stühlinger MC, Tsao PS, Kimoto M, Cooke JP (2000) Homocysteine Induced Accumulation of Asymmetric Dimethylarginine-Role of DDAH and Effect of Antioxidants. (Abstract) *Circulation* 102: II-177

Stühlinger MC, Tsao PS, Jeng-Horng H, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP (2001) Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway. Role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001; 104: 2569-75

Sullivan ME, Thompson CS, Dashwood MR, Khan MA, Jeremy JY, Morgan RJ, Mikhailidis DP (1999) Nitric oxide and penile erection: is erectile dysfunction another manifestation of vascular disease? *Cardiovasc Res* 43: 658-65

Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boger RH, Bode-Boger SM, Kruszelnicka-Kwiatkowska O, Kokot F, Dubiel JS, Froelich JC (1999) Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 33: 653-58

Surks HK, Mochizuki N, Kasai Y, Georgescu SP, Tang KM, Ito M, Lincoln TM, Mendelsohn ME (1999) Regulation of myosin phosphatase by a specific interaction with cGMP dependent protein kinase I α . *Science* 286: 1583-87

Sydow K, Böger RH (2001) Homocys(e)ine, endothelial dysfunction and cardiovascular risk. Pathomechanisms and therapeutical options. *Z Kardiol* 90: 1-11

Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Tsikas D, Hornig B, Frölich JC, Böger RH (2003) ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res* 57(1): 244-52

Tang J, Kao PN, Herschman HR (2000) Protein Arginin Methyltransferase I (PRMT I), the Predominant Protein Arginine Methyltransferase in Cells, Interacts with and is Regulated by Interleukin Enhancer Binding Factor 3. *J Biol Chem* 275: 19866-19876

Theilmeyer G, Chan JR, Zalpour C, Anderson B, Wang BY, Wolf A, Tsao PS, Cooke JP (1997) Adhesiveness of mononuclear cells in hypercholesterolemic humans is normalized by dietary L-arginine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 17(12):3557-64

Tiefenbacher CP, Bleeke T, Vahl C, Amann K, Vogt A, Kübler W (2000) Endothelial dysfunction of coronary resistance arteries is improved by tetrahydrobiopterin in atherosclerosis. *Circulation* 102: 2172-79

Tojo A, Kimoto M, Wilcox CS (2000) Renal expression of constitutive NOS and DDAH: separate effects of salt intake and angiotensin. *Kidney Int* 58: 2075-83

Trigo-Rocha F, Aronson WJ, Hohenfellner M, Ignarro LJ, Rajfer J, Lue TF (1993) Nitric oxide and cGMP: mediators of pelvic nerve stimulated erection in dogs. *Am J Physiol* 264: H419-22

Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, Cooke JP (1996) Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness: nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM. *Circulation* 94:1682-89

Tsao PS, Wang B, Buitrago R, Shyy JY, Cooke JP (1997) Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation* 96:934-40

Tsikis D, Böger RH, Sandman J, Bode-Böger S, Frölich J (2000) Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. *FEBS Lett* 478: 1-3

Türk S, Karalezli G, Tonbul HZ, Yildiz M, Altintepe L, Yildiz A, Yeksan M (2001) Erectile dysfunction and the effects of sildenafil treatment in patients on haemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 16: 1818-22

Tuttle WB, Cook WL, Fitch E (1964) Sexual behavior in post myocardial infarction patients. *Am J Cardiol* 13: 140

Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, Laaksonen R (2001) Risk of acute coronary events and serum concentrations of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 358: 2127-28

Vallance P, Collier J, and Moncada S (1989) Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 2: 997-1000

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S (1992) Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339: 572-75

Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, Tordo P, Pritchard KA Jr (1998) Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of co-factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 9220-25

Virag R, Bouilly P, Frydman D (1985) Is impotence an arterial disorder? A study of arterial risk factors in 440 impotent men. *Lancet* (8422):181-4

Virag R, Floresco J, Richard C (2004) Impairment of shear-stress-mediated vasodilation of cavernous arteries in erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 16(1):39-42

Wang BY, Ho HK, Lin PS, Schwarzacher SP, Pollman MJ, Gibbons GH, Tsao PS, Cooke JP (1999) Regression of atherosclerosis: role of nitric oxide and apoptosis. *Circulation* 99: 1236-41

Wei M, Macera CA, Davis DR, Hornung CA, Nankin HR, Blair SN (1994) Total cholesterol and high density lipoprotein cholesterol as important predictors of erectile dysfunction. *AmJEpidem.* 140:930-7

Wolf A, Zalpour C, Theilmeyer G, Wang BY, Ma A, Anderson B, Tsao PS, Cooke JP (1997) Dietary L-arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterolemic humans. *J Am Coll Cardiol* 1997 29(3):479-85

Xia, Y, Tsai AL, Berka V, Zweier JL (1998) Superoxide generation from endothelial nitric-oxide synthase. A Ca²⁺/calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process. *J Biol Chem* 273: 25804-25808

Xiao Z, Zhang Z, Diamond SL (1997) Shear stress induction of the endothelial nitric oxide synthase gene is calcium-dependent but not calcium-activated. *J Cell Physiol* 171: 205-11

Yamashita T, Kawashima S, Ozaki M, Rikitake Y, Hirase T, Inoue N, Hirata K, Yokoyama M (2001) A calcium channel blocker, benidipine, inhibits intimal thickening in the carotid artery of mice by increasing nitric oxide production. *J Hypertens* 19: 451-58

Yoshizumi M, Perrella MA, Burnett JC, Lee ME (1993) Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase messenger RNA by shortening its half-life. *Circ Res* 73: 205-09

Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich J, Böger R (2001) Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 358(9299):2113-7

Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F, Tripepi G, Malatino LS, Böger R (2002) Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in endstage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 13: 490-96

Zou M, Martin C, Ullrich V (1997) Tyrosine nitration as a mechanism of selective inactivation of prostacyclin synthase by peroxynitrite. *Biol Chem* 378: 707-13

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Molekularer Mechanismus der Kontraktion peniler glatter Muskulatur. Aus sympathischen Nervenendigungen freigesetztes Noradrenalin und vom Endothel freigesetztes Endothelin sowie Prostaglandin F ₂ α aktivieren Rezeptoren der glatten Muskelzelle und initiieren damit die Reaktionskaskade, die in einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration und Kontraktion der glatten Muskelzelle resultiert. (Dean et Lue 2005).....	4
Abbildung 2: Molekularer Mechanismus der Relaxation peniler glatter Muskulatur. Cyclisches AMP (cAMP) und cyclisches GMP (cGMP), intrazelluläre second messenger, aktivieren spezifische Proteinkinasen, die bestimmte Proteine phosphorylieren, was zu einer Öffnung von Kaliumkanälen, Schließung von Calciumkanälen und Abnahme der intrazellulären Calciumkonzentration führt. Daraus resultiert die Relaxation der glatten Muskelzelle (Dean et Lue 2005).	5
Abbildung 3: Stickstoffmonoxid-Wirkmechanismen.....	13
Abbildung 4: Stickstoffmonoxid: Seine Synthese und relaxierende Wirkung auf die glatter Muskelzelle	14
Abbildung 5: L-Arginin-Stickstoffmonoxid-Stoffwechselweg modifiziert nach Maas et al 2002	15
Abbildung 6: L-Arginin im Strukturvergleich zu seinen Analoga	21
Abbildung 7: ADMA-Synthese durch die Protein-Arginin-N-Methyltransferase	21
Abbildung 8: ADMA-Metabolisierung durch die Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase zu L-Citrullin und Dimethylamin.....	22
Abbildung 9: Hochdruckflüssigchromatogramm eines Standards bestehend aus L-Arginin, Homoarginin, SDMA und ADMA	30
Abbildung 10: ADMA-Plasmakonzentration in Männern ohne klinischen Hinweis für KHK oder ED (ohne KHK), in Männern mit KHK aber ohne ED (KHK), in Männern mit KHK und nicht-traumatischer ED (ED-KHK) und in Männern mit ED aber ohne klinischen Hinweis für KHK (ED-ohne KHK). L-Arginin-Plasmakonzentration und L-Arginin/ADMA-Quotient in Männern mit ED mit (ED-KHK) und ohne KHK (ED-ohne KHK).	36

10 .Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation und häufige Ursachen der erektilen Dysfunktion: Kategorien, allgemeine Störungen und Pathophysiologie.....	7
Tabelle 2: ADMA-Plasmakonzentration in Männern ohne klinischen Hinweis für KHK oder ED (ohne KHK), in Männern mit KHK aber ohne ED (KHK), in Männern mit KHK und nicht-traumatischer ED (ED-KHK) und in Männern mit ED aber ohne klinischen Hinweis für KHK (ED-ohne KHK)...	35
Tabelle 3: Odds ratios für das Vorhandensein von KHK bei Männern mit erektiler Dysfunktion (ED) aus einem multivariaten logistischen KHK-Risikofaktoren-beinhaltenen Regressionsmodell *	37
Tabelle 4: Merkmale und Risikofaktoren bei Männern ohne erektiler Dysfunktion	39
Tabelle 5 a/b: ADMA,- L-Arginin und ADMA/L-Arginin ratio in Relation zu ED and KHK	41

11. Anhang

11.1. IIEF-5-Fragebogen

Fragebogen zur sexuellen Gesundheit beim Mann (IIEF-5)

Sexualität ist ein wichtiger Teil des gesamten körperlichen und seelischen Wohlbefindens

Erektionsstörungen gehören zu den häufigsten Sexualstörungen. Es gibt eine Reihe unterschiedlicher Behandlungsmöglichkeiten bei Erektionsstörungen. Dieser Fragebogen soll Ihnen und Ihrem Arzt helfen herauszufinden, ob Sie an Erektionsstörungen leiden, und Ihnen die Möglichkeiten bieten, Behandlungsmethoden zu diskutieren.

Zu jeder Frage gibt es mehrere Antwortmöglichkeiten. Bitte wählen Sie die Antwort aus, die Ihre eigene Situation am besten beschreibt. Wir möchten Sie bitten, keine Frage auszulassen und jede Frage nur eine einzige Antwort zuzuordnen und kreuzen Sie die entsprechende Zahl an.

Betrachten Sie die letzten 6 Monate:

1. **Wie zuversichtlich sind Sie, eine Erektion zu bekommen und aufrechterhalten zu können?**
Sehr hoch
Hoch
Mittelmäßig
Niedrig
Sehr niedrig
2. **Wie schwierig war es beim Geschlechtsverkehr die Erektion bis zum Ende des Geschlechtsverkehrs aufrechtzuerhalten?**
Ich habe keinen Geschlechtsverkehr versucht
Äußerst schwierig
Sehr schwierig
Schwierig
Ein bißchen schwierig
Nicht schwierig
3. **Wenn Sie bei sexueller Stimulation Erektionen hatten, wie oft waren Ihre Erektionen hart genug um in Ihren Partner einzudringen?**
Keine sexuelle Aktivität
Fast nie oder nie
Selten (viel weniger als die Hälfte der Zeit)
Manchmal (etwa die Hälfte der Zeit)
Meistens (viel mehr als die Hälfte der Zeit)
Fast immer oder immer
4. **Wenn Sie bei sexueller Stimulation Erektionen hatten, wie oft waren Ihre Erektionen hart genug um in Ihren Partner einzudringen?**
Keine sexuelle Aktivität
Fast nie oder nie
Selten (viel weniger als die Hälfte der Zeit)
Manchmal (etwa die Hälfte der Zeit)
Meistens (viel mehr als die Hälfte der Zeit)
Fast immer oder immer
5. **Wie oft waren Sie beim Geschlechtsverkehr in der Lage, die Erektion aufrechtzuerhalten, nachdem Sie in Ihren Partner eingedrungen waren?**
Ich habe keinen Geschlechtsverkehr versucht
Fast nie oder nie
Selten (viel weniger als die Hälfte der Zeit)
Manchmal (etwa die Hälfte der Zeit)
Meistens (viel mehr als die Hälfte der Zeit)
Fast immer oder immer

Auswertung:

0 P. = keinen GV versucht.

Dadurch dass die erste Frage diese Lösung nicht beinhaltet ist die Mindestpunktzahl 1.

1P.= Für jede Antwort "fast nie oder nie"

2 P. = Für jede Antwort "Selten"

3 P. = Für jede Antwort "Manchmal"

4 P. = Für jede Antwort "Meistens"

5 P.= Für jede Antwort "Fast immer oder immer"

Wenn Sie in der Summe der fünf Fragen weniger als 22 Punkte erreichen, bestehen bei Ihnen Anzeichen für eine Erektile Dysfunktion.

Hintergrund:

Der "Fragebogen zur sexuellen Gesundheit beim Mann (IIEF-5)" wurde auf der Grundlage des "International Index of Erectile Function (IIEF)" unter Beibehaltung von dessen hoher Sensitivität und Spezifität als verkürztes Diagnoseinstrument (5 Fragen) für Erektile Dysfunktion entwickelt.

Die fünf Fragen des verkürzten Fragebogens haben für die Unterscheidung von Patienten mit Erektile Dysfunktion von denen ohne Erektile Dysfunktion eine Sensitivität von 98% und eine Spezifität von 88%.

* Rosen RC, Cappelleri JC, Smith MD, Lipsky J, Peña BM (1999) Development and evaluation of an abridged, 5-item version of the international index of erectile function (IIEF-5) as a diagnostic tool for erectile dysfunction. International Journal of Impotence Research 11: 319-326

11.3. Publikation

Maas R, Wenske S, Zabel M, Ventura R, Schwedhelm E, Steenpaß A, Klemm H, Noldus J, Böger RH
(2005) Elevation of asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and coronary artery disease in men with
erectile dysfunction. *Eur Urol* 48(6): 1004-11

11.4. Danksagung

Ich danke besonders Herrn Prof. Dr. med. Rainer Böger für die Überlassung des Promotionsthemas und die motivierende Unterstützung meiner Arbeit an seinem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie

Herrn Prof. (em.) Dr. med. Hasso Scholz und Herrn Prof. Dr. med. Thomas Eschenhagen möchte ich danken, daß ich die Möglichkeit erhielt, diese Arbeit im Institut für Experimentelle Pharmakologie und Toxikologie durchzuführen.

Meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. med. Renke Maas danke ich für das fortwährende Vertrauen in meine Arbeit, seine Motivation und insbesondere für seine konstruktive Hilfe bei der Auswertung der Studie.

Für die urologischen Erhebungsdaten möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Sven Wenske und bei Herrn Prof. Dr. med. Joachim Noldus sowie der urologischen Abteilung des UKE bedanken.

Herrn PD Dr. med. Rodolfo Ventura und der kardiologischen Abteilung des UKE danke ich für die kardiologischen Erhebungsdaten.

Für die experimentelle Durchführung der Studie möchte ich mich besonders bei Frau Anna Steenpaß und Frau Mariola Kastner sowie bei allen nicht namentlich genannten Institutsmitgliedern für ihre Hilfsbereitschaft und Zusammenarbeit bedanken.

Für die geduldige Hilfe, bei der technische Umsetzungen meiner Graphiken, möchte ich mich bei Philipp Bramke aus der Arbeitsgruppe Prof. Panzer bedanken.

Meiner Familie, insbesondere meiner Ehefrau, meinem Sohn sowie meiner Mutter, danke ich für die große Unterstützung und den liebevollen Zuspruch während der gesamten Zeit.

11.5. Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass keine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades vorliegt.

Marcus Zabel

