

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)

**Zentrum für Experimentelle Medizin:
Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Direktor: Prof. Dr. Rainer H. Böger**

Bedeutung des Stickstoffmonoxid (NO)-Synthese-Inhibitors asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) als prädiktiver Marker für das Schlaganfallrisiko

Dissertation

zur Erlangung des Grades doctor medicinae (Dr. med.) der Medizinischen Fakultät der
Universität Hamburg vorgelegt von

ROUVEN-ALEXANDER VON HOLTEN
aus
Buxtehude

Hamburg, 2011

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 23.08.2012

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. R. Böger

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: PD Dr. T. Magnus

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: PD. Dr. K. Sydow

Inhalt

1. Arbeitshypothese und Fragestellung	4
2. Einleitung	5
2.1. Endotheliale Dysfunktion	6
2.2. Stickstoffmonoxid und seine Eigenschaften auf das Gefäßsystem.....	8
2.3. Hemmung der NO-Synthese.....	9
2.4. ADMA- Synthese und -Abbau	10
2.5. ADMA und seine klinische Bedeutung	11
3. Zerebrale Durchblutungsstörungen	13
3.1. Einführung	13
3.2. Schlaganfall Definition und Epidemiologie	13
3.3. Pathophysiologie und Ätiologie	14
3.4. Risikofaktoren für ischämischen Schlaganfall	15
3.5. ADMA und sein Zusammenhang mit dem Schlaganfallrisiko	16
3.6. Ziel dieser Arbeit.....	17
4. Material und Methoden.....	18
4.1. Studienprotokoll und Patientenauswahl	18
4.2. Primärer und sekundärer Endpunkt	18
4.3. Ein- und Ausschlusskriterien.....	18
4.4. Ablauf der Studie	19
4.5. Definition der Ereignisse	22
4.6. Bestimmung von ADMA im Plasma	23
4.7. Angewandte statistische Verfahren.....	24
5. Ergebnisse	25
5.1. Erhebungsdaten aller Patienten.....	25
5.2. Plasma-Spiegel für L-Arginin, ADMA und SDMA	26
5.3. Dimethylarginine und Ereignisse im 30 Tage Follow-up.....	27
5.4. Kaplan-Meier-Kurven.....	28
6. Die „Leeds“-Studie	31
6.1. Überblick.....	31
6.2. Dimethylarginine in der Leeds-Studie	33
6.3. Kaplan-Meier-Kurven multi- und univariater Analysen.....	34
7. Diskussion.....	36
8. Zusammenfassung.....	41
9. Abkürzungsverzeichnis	42

10.	Literaturverzeichnis.....	44
11.	Anhang.....	56
11.1.	Erhebungsbogen.....	56
11.2.	Follow-up Bogen.....	57
12.	Danksagung.....	58
13.	Lebenslauf.....	59
14.	Erklärung.....	60

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

ADMA wird schon seit einiger Zeit als Risikomarker für kardiovaskuläre Ereignisse gesehen, wobei die Rolle der ischämischen Insulte und ADMA im Speziellen bisher kaum untersucht worden ist.

Die primäre Hypothese, die in der vorliegenden Arbeit untersucht werden soll, lautet, dass erhöhte ADMA-Plasmaspiegel auch mit einem erhöhten Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden, einhergehen. Darüber hinaus soll in dieser Arbeit untersucht werden, ob ADMA oder auch symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) einen unabhängigen Risikomarker für die Gesamtmortalität bei Schlaganfällen darstellt und auch dort ein erhöhtes Risiko anzeigt, wo bisher bereits bekannte Risikomarker nur unzureichende Erkenntnisse brachten.

Zu diesem Zweck wurde die ADMA-, SDMA-, und L-Arginin-Plasmakonzentration bei 141 Patienten, die mit der Diagnose einer transitorisch ischämischen Attacke (TIA), einer subcortikalen arteriosklerotischen Enzephalopathie (SAE), oder eines ischämischen Insultes in der Asklepiosklinik Harburg aufgenommen worden sind, bestimmt. Desweiteren wurde ein 30-Tage Follow-up angeschlossen, um eine Korrelation zwischen ADMA-Spiegeln und der Schwere des Insultes und/oder einem komplikationsträchtigen Verlauf zu untersuchen.

2. Einleitung

Zerebrale Durchblutungsstörungen sind sowohl in Deutschland als auch weltweit gesehen die zweithäufigste Todesursache. Den zugrunde liegenden Risikofaktoren dieser Erkrankung ist gemein, dass sie mit einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit am Endothel einhergehen. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass bei Dialyse-pflichtigen Patienten und bei Nichtrauchern deutlich erhöhte Konzentrationen des endogenen NO-Synthase-Inhibitors ADMA als stärkerer, unabhängiger Prädiktor für die Gesamtmortalität und das Auftreten erneuter kardiovaskulärer Events gelten, als es in diesen Kollektiven für die klassischen Risikofaktoren der Fall war.

Eine besondere klinische Relevanz in der Schlaganfalldiagnostik stellen Patienten mit einer subcortikalen arteriosklerotischen Enzephalopathie (SAE) dar. Bei diesen Patienten, die durch die Entwicklung der Symptome einer Demenz klinisch auffallen, können keine klinischen Anzeichen wiederholter ischämischer Geschehen nachgewiesen werden. Ein aktuelles Magnetresonanztomographie (MRT)-Bild ist bei diesem Krankheitsbild wegführend, da mit dieser Methode diffus verteilte, kleine ischämische Läsionen nachgewiesen werden können. Die klinische Diagnosestellung würde durch die Identifikation eines biochemischen Markers, der Patienten mit einem hohen Risiko identifiziert, erheblich erleichtert werden.

Ziel dieses Projektes ist es, bei Patienten, die aufgrund eines Schlaganfalls der Therapie in einer Stroke-Unit zugeführt werden, die ADMA-Plasmakonzentration zu bestimmen, um zu untersuchen, ob ADMA auch bei zerebralen ischämischen Insulten als Risikomarker verwendet werden kann. Hierzu soll bei einer Kohorte von Schlaganfall-Patienten ADMA im Blutplasma bestimmt und in statistischen Ansätzen gemeinsam mit anderen, etablierten Risikomarkern evaluiert werden, um in multivariaten statistischen Modellen zu prüfen, ob ADMA unabhängig von anderen Risikomarkern (siehe oben) das Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden, anzeigt.

Eine zweite Patientengruppe wird aus Patienten bestehen, bei denen eine SAE nachgewiesen wurde. Auch bei diesen Patienten soll eine Blutprobe zur Bestimmung der ADMA-Plasmakonzentration abgenommen werden. Die Erhebung weiterer klinischer Laborparameter, Untersuchungsbefunde und diagnostischer Kriterien erfolgt in derselben Weise, wie in der Kohorte der Schlaganfall-Patienten. Im Anschluss erfolgt der Vergleich

der beiden Kollektive mit einem Kollektiv alters- und geschlechts-gematchter gesunder Kontrollen (die Analyseergebnisse entstammen aus einer sehr umfangreichen Kontrollgruppe und liegen in pseudonymisierter Form im Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie des UKE vor).

Zudem erfolgt bei allen Patienten ein Follow-up bis zum 30. Tag nach Ereignis, in dem der Gesamtzustand des Patienten mittels des modified Rankin Scale (mRS), seine Verweildauer im Krankenhaus der Akutbehandlung und sämtliche Komplikationen im Verlauf erfasst und dokumentiert werden. Diese sollen dann mit Ergebnissen einer Studie verglichen werden, in der ein Follow-up ab dem 30. Tag nach Ereignis durchgeführt worden ist.

2.1. Endotheliale Dysfunktion

Das Gefäßendothel kann in seiner Gesamtheit als größtes Organ mit endo- und parakrinen Eigenschaften bezeichnet werden [Landim et al. 2009]. Das gesunde Endothel verhindert Leukozyten- und Thrombozytenaggregation, wirkt antiinflammatorisch, vasodilatativ und vermindert den oxidativen Stress. Das Endothel setzt neben verschiedenen vasodilatatorischen Stoffen, wie Prostaglandin I₂ (PGI₂) und NO auch Acetylcholin [Furchtgott et al. 1980], Bradykinin [Chand et al. 1981] und Serotonin frei, die über sekundäre NO-Freisetzung aus dem Endothel wirken.

Als endotheliale Dysfunktion bezeichnet man eine Funktionsstörung des Endothels. Diese umfasst alle Funktionsbereiche des Endothels wie Gefäßweitenregulation, Gefäßpermeabilität, die Modulation adhäsiver Eigenschaften und die Trombozytenaggregationshemmung.

Ihr liegt ein Mangel an gelöstem NO zu Grunde, der auf verschiedene biochemische Pathomechanismen zurückzuführen ist. Diese wiederum sind durch Risikofaktoren der Arteriosklerose bedingt oder können dadurch gefördert werden.

Ursachen für einen solchen NO-Mangel können sein:

- Eine Fehlfunktion der NO-Synthase durch erhöhte Blutspiegel des Enzyms ADMA.
- Ein relativer L-Argininmangel, welcher das Ausgangsprodukt der NO-Synthese ist. Auch dieser wird durch einen erhöhten ADMA-Spiegel verursacht.
- Durch oxidativen Stress wird Angiotensin-II vermittelt, eine Aktivitätssteigerung der Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH)-Oxidase mit vermehrter

Freisetzung von Sauerstoffsuperoxid ($O_2^{\cdot-}$), gefördert. Dieses wiederum inaktiviert dann durch eine gemeinsame Reaktion NO zu Peroxynitrit ($ONOO^-$).

Die, als Indikator für die Atherosklerose geltende endotheliale Dysfunktion, scheint sich im Gegensatz zum übrigen Körper intracraniell deutlich langsamer zu entwickeln.

NO wird im Organismus durch die NO-Synthase (NOS) aus L-Arginin gebildet. Das aus den in Endothelzellen gebildete NO diffundiert in die Nachbarzellen, wo es durch Bindung an die Hämgruppe der Guanylatzyklase für eine vermehrte Bildung von cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) sorgt [Faraci et al. 1994].

Dieses wiederum führt durch eine Senkung der Calcium (Ca^{2+})-Konzentration zu verminderten Muskelkontraktionen, die letztendlich für Gefäßdilataion und gesteigerte Perfusion verantwortlich sind.

Im menschlichen Körper unterscheidet man drei Isoformen der NOS

- nNOS (auch NOS1 o. NIS-I) die neuronale NO-Synthase
- iNOS (auch NOS2 o. NOS-II) die induzierbare NO-Synthase (z.B. durch Makrophagen, Mesangiumzellen, Kardiomyozyten oder auch glatte Muskelzellen)
- eNOS (auch NOS3 o. NOS-III) die endotheliale NO-Synthase, die aber auch zum Teil im Zytosol zu finden ist

Während eNOS und nNOS in vivo konstitutiv exprimiert werden und somit auch gemeinsam als constitutive-NOS (cNOS) bezeichnet werden, erfolgt eine Exprimierung von iNOS hauptsächlich durch eine Aktivierung von Transkriptionsfaktoren [Knowles et al. 1994].

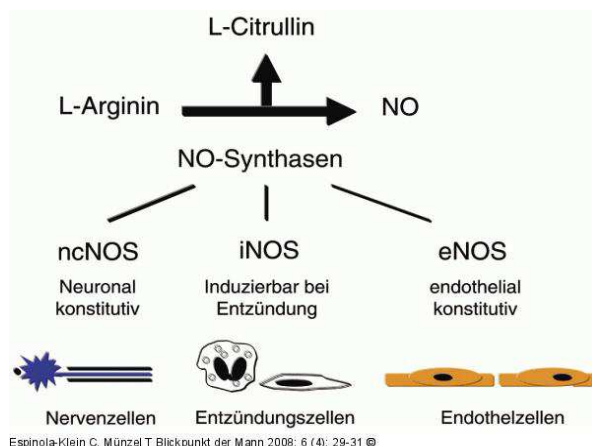


Abbildung 1: Verteilung der verschiedenen NO-Synthasen im Gewebe

2.2. Stickstoffmonoxid und seine Eigenschaften auf das Gefäßsystem

NO wird in den Endothelzellen durch das Enzym NO-Synthase aus der Aminosäure L-Arginin gebildet und ist ein wichtiger Gefäßmediator, der von intaktem Endothel freigesetzt wird [Böger et al. 1996].

Seine als „Endothelium-derived relaxing factor“ (EDRF) beschriebene vasodilatierende Wirkung [Furchtgott et al. 1980], besteht auf einer direkten Aktivierung der Guanylatzyklase [Faraci et al. 1994].

Die Regulation erfolgt hierbei über die NOS, welche wiederum in ihrer Expression durch Scherkräfte am Endothel herauf- [Nishida et al. 1992] oder im gegensätzlichen Mechanismus durch Zytokine herabreguliert wird [Yan et al. 2008].

Zusätzlich zu seiner vasodilatierenden Eigenschaft wirkt NO auch als endogener Trombozytenaggregationshemmer [Wolf et al. 1997], was durch eine Erhöhung der intrazellulären cGMP Konzentration hervorgerufen wird. Zudem erfolgt durch diesen second-messenger eine Hemmung der Proliferation glatter Muskelzellen [Kapadia et al. 2009]. Darüber hinaus hat er einen hemmenden Einfluss auf die Adhäsion von Mono- und Leukozyten am Endothel, welches den ersten Schritt zur Bildung atherosklerotischer Plaques darstellt. Nicht zuletzt bewirkt es eine Reduktion von Superoxidradikalen, die ihre Beteiligung an zahlreichen inflammatorischen und zytotoxischen Prozessen haben [Böger et al. 1995]. Eine wesentliche Rolle spielt, nach dem Verständnis der Entstehung der Atherosklerose, die Verminderung der Oxidation von Low density lipoprotein (LDL)-Partikeln [Hogg et al. 1993].

Hierbei kommt es durch Superoxid-anionen zu oxidativen Veränderungen der LDL-Partikel.

Dieses wiederum führt zu einer vermehrten Umwandlung von Monozyten in Makrophagen, die dann über Scavenger-Rezeptoren vermehrt oxidiertes LDL aufnehmen und sich in Schaumzellen verwandeln. Durch seine Zytotoxizität hemmt das oxidierte LDL die Motilität der Gewebsmakrophagen und führt somit zur Hyperkoagulabilität im Bereich betroffener Gefäßregionen [Galkina et al. 2009]. Siehe Abbildung 2

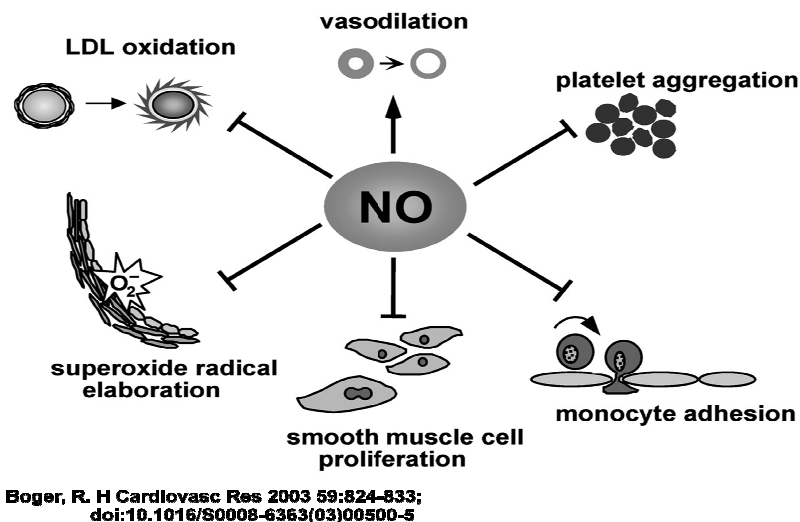


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Eigenschaften von NO auf das Gefäßsystem

2.3. Hemmung der NO-Synthese

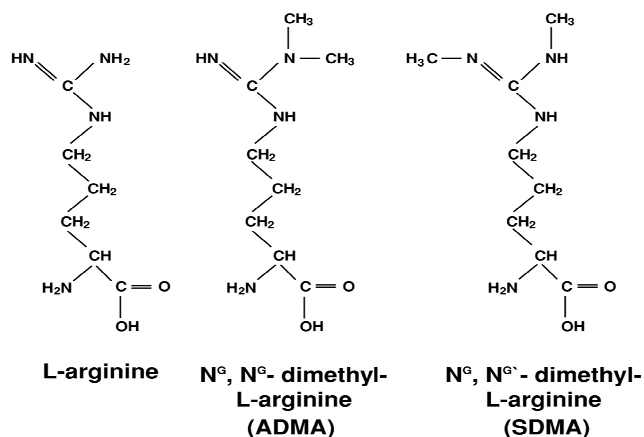
Bei einer Reihe von Untersuchungen, sowohl in vitro als auch zuletzt in klinischen Studien, konnte gezeigt werden, dass bei einer Gruppe von L-Arginin Substrat-Analoga die NOS-Aktivität gehemmt wurde. Dabei handelt es sich um N^G-nitro-L-arginin (L-NNA), N^G-nitro-L-argininmethyl-ester (L-NAME), N^G-monomethyl-L-arginin-acetat (L-NMMA), und N^G-amino-L-arginine [Rees et al. 1990]. Desweiteren konnte auch eine gewisse Selektivität von L-NNA und L-NAME für eNOS und nNOS nachgewiesen werden [Dudzinski et al. 2006]. So konnte bei menschlichen Probanden, z.B. durch Infusionen des NOS-Inhibitors L-NMMA in die A. brachials, eine lokale Vasokonstriktion und somit ein reduzierter Blutfluss erzielt werden [Vallance et al. 1989].

Ein weiterer, die NO-Synthase hemmender Stoff ist das ebenfalls endogen gebildete Arginin-Analogon ADMA. ADMA und L-NMMA sind im menschlichen Organismus als gleichstarke Inhibitoren der NO-Synthase bekannt [Vallance et al. 1992]. Da die Plasmaspiegel von ADMA jedoch um ein bis zu 10-faches höher liegen als die von L-NMMA, ist davon auszugehen, dass ADMA der wesentlichste endogene NOS-Inhibitor ist. Es konnte nachgewiesen werden, dass ADMA in kultivierten, menschlichen Makrophagen die NO-Freisetzung konzentrationsabhängig hemmen kann [Vallance et al. 1992]. Zudem hemmt ADMA auch die Bildung von NO in Konzentrationsbereichen, die bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen zu finden sind [Mittermayer et al. 2006 und Krempl et al. 2005].

An dieser Stelle muss auch noch auf ein weiteres L-Arginin-Analogon hingewiesen werden. Bei diesem handelt es sich um SDMA, welches als Stereoisomer des ADMA's, je eine weitere Methylgruppe an beiden Guanidinogruppen enthält. SDMA hat jedoch ganz im Gegensatz zu ADMA weder in vivo noch in vitro einen Effekt auf die NOS [Vallance et al. 1992].

2.4. ADMA- Synthese und -Abbau

Substanzen wie ADMA, die eine hohe Strukturähnlichkeit mit L-Arginin aufweisen, aber ein oder zwei zusätzliche Methylgruppen enthalten, wurden erstmalig im Jahre 1992 entdeckt und entsprechend ihrer Methylgruppen als Mono- oder Dimethylarginin bezeichnet [Vallance et al. 1992].



Böger, R. H *Cardiovasc Res* 2003 59:824-833;
doi:10.1016/S0008-6363(03)00500-5

Abbildung 3: Strukturformeln

Dimethylarginine entstehen während der Proteolyse methylierter Proteine. Dieser Prozess erfolgt durch S-Adenosylmethionin-Protein-Arginin-N-Methyltransferasen (Protein-Methylasen I und II oder PRMT I und II), wobei eine oder mehrere Methylgruppen vom Donator S-Adosylmethionin auf endständige Stickstoffe der Guanidinogruppe von L-Arginin übertragen werden [Paik et al. 1968]. Die Übertragung von diesem Zwischenprodukt des Homocysteinestoffwechsels konnte experimentell belegt werden [Böger et al. 2000]. So katalysiert die Protein-Methylase I die Reaktion zu Monomethylarginin und ADMA und die Protein-Methylase II die Reaktion zu Monomethylarginin und SDMA [Rawal et al. 1994 und 1995].

ADMA wird mittels hydrolytischer Spaltung durch die Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) in Citrullin und Dimethylamin gespalten oder

unverändert über die Niere ausgeschieden [Murray-Rust et al. 2001]. Im menschlichen Körper werden täglich annähernd 300 µmol ADMA produziert, von denen geschätzte 250 µmol durch die DDAH metabolisiert werden und nur ein sehr geringer Anteil über die Niere ausgeschieden wird [Xiao et al 2001].

Die DDAH an sich hat zwei Isoformen, wovon die DDAH I in Geweben dominiert, welche die neuronale NOS exprimieren und DDAH II in Geweben mit Exprimierung der endothelialen Form der NOS dominant ist, wie z.B. am Herzen [Leiper et al. 1999]. Einer Dysfunktion der DDAH bei erhöhtem ADMA-Werten kommt somit eine Schlüsselrolle zu. So konnte bei kultivierten Endothelzellen, die oxidativem LDL oder Tumornekrosefaktor alpha (TNF-α) ausgesetzt worden waren, eine erniedrigte DDAH-Aktivität gemessen werden. Zudem war dies mit einer erhöhten ADMA-Ansammlung in der kultivierten Media assoziiert [Ito et al. 1999].

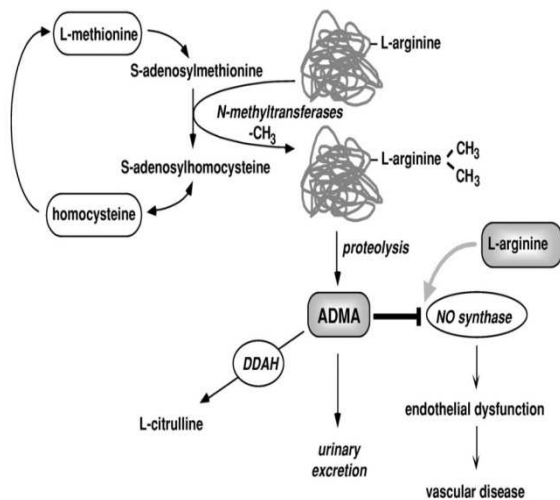


Abbildung 4: Schematische Darstellung des L-Arginin/NO-Stoffwechselweges nach RH Böger aus: ADMA a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Annals of Medicine*. 2006;38: 126-36

2.5. ADMA und seine klinische Bedeutung

Bei Patienten, die unter einem essentiellen arteriellen Hypertonus leiden, konnte ein im Vergleich zu einer Kontrollgruppe um den Faktor zwei erhöhter ADMA-Plasmaspiegel nachgewiesen werden [Surdacki et. al. 1999]. In einer klinischen Studie konnte gezeigt werden, dass intravenös verabreichtes ADMA bei gesunden Erwachsenen sowohl zu einem Absinken des Herzzeitvolumens als auch zu einem erhöhtem Blutdruck führt [Achan et al. 2003]. Bei schwangeren Patientinnen, die unter Präeklampsie leiden, konnte gleichzeitig eine endotheliale Dysfunktion nachgewiesen werden, wobei ein Anstieg der

ADMA-Konzentration bis auf das 3-fache gemessen werden konnte [Savidou et al. 2003].

Selbst bei Kindern die schon unter arteriellem Bluthochdruck leiden, konnten in diesem Zusammenhang signifikant erhöhte ADMA- und SDMA-Werte festgestellt werden [Goonasekera et. al. 1997].

Auch im Bereich der Stoffwechselerkrankungen konnte ein Zusammenhang mit ADMA nachgewiesen werden. So wurden bei Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ II signifikant höhere ADMA-Plasmakonzentrationen gemessen als in vergleichbaren Kontrollgruppen. Selbst die Einnahme besonders fettreicher Mahlzeiten führt schon zu einem akuten Anstieg der ADMA-Werte [Fard et al. 2000]. Bei Patienten hingegen, die an Diabetes mellitus Typ I erkrankt sind, konnten signifikant niedrigere ADMA-Konzentrationen nachgewiesen werden als in der gesunden Kontrollgruppe [Sibal et al. 2009]. Untersuchungen, die den Zusammenhang zwischen erhöhten LDL-Cholesterinwerten und ADMA eruieren sollten, konnten zeigen, dass in diesem Patientenkollektiv ein um den Faktor zwei erhöhter ADMA-Wert gemessen wurde [Böger et.al. 1998]. Auch im Rahmen einer Hypertriglyzeridämie wurde im Zusammenhang mit einem erhöhten ADMA-Plasmaspiegel das Entstehen einer endothelialen Dysfunktion beobachtet [Lundmann et al. 2001].

Hyperhomocysteinämie wird als ein mutmaßlicher Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen gesehen [Welch et. al. 1998]. Es konnte gezeigt werden, dass Homocystein die Enzymaktivität der DDAH hemmt und so durch einen Anstieg der ADMA-Plasmakonzentration zu einer Hemmung der NOS führt [Stühlinger et al. 2001].

Im Bereich der kardiovaskulären Erkrankungen ließ sich in einem Patientenkollektiv männlicher Nichtraucher ein fast 4-fach erhöhtes Risiko für das Auftreten eines akuten Koronarsyndroms bei erhöhten ADMA-Spiegeln nachweisen [Valkonen et. al. 2001].

Patienten, die unter einer Niereninsuffizienz leiden, waren das erste Patientenkollektiv, bei dem ein Zusammenhang zwischen ihrer Grunderkrankung und der hohen Rate an kardiovaskulären Begleiterkrankungen vermutet wurde [Böger etal. 2003]. In diesem Bereich konnte auch erstmals die Bedeutung des ADMA-Spiegels als prognostischer Marker gezeigt werden. So hatten dialysepflichtige Patienten, die am Beginn der prospektiven Studie den höchsten ADMA-Plasmaspiegel hatten, im Verlauf auch die höchste Komplikations- und sogar Mortalitätsrate [Zoccali et al. 2001].

3. Zerebrale Durchblutungsstörungen

3.1. Einführung

Zerebrale Durchblutungsstörungen sind sowohl in Deutschland als auch weltweit gesehen die zweithäufigste Todesursache. Die World Health Organization (WHO) schätzte, dass im Jahr 2005 5,7 Millionen Menschen an den Folgen zerebraler Durchblutungsstörungen verstarben. Dies entspricht 9,9 % der Gesamtsterblichkeit. Ein Drittel der Betroffenen war jünger als 70 Jahre [WHO 2006]. Klassische Risikofaktoren sind arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, zunehmendes Alter, Carotisstenose, Vorhofflimmern (VHF), Diabetes mellitus, Hyperhomocysteinämie, Rauchen, Adipositas und Arteriosklerose. Diesen Risikofaktoren ist gemein, dass sie mit einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit am Endothel einhergehen. Kürzlich konnte gezeigt werden, dass bei Dialyse-pflichtigen Patienten [Zoccali et al. 2001] und bei Nichtrauchern [Valkonen et. al. 2001] deutlich erhöhte Konzentrationen des endogenen NO-Synthase-Inhibitors ADMA als stärkerer unabhängiger Prädiktor für die Gesamtmortalität und das Auftreten erneuter kardiovaskulärer Events gelten, als dies in diesen Kollektiven für die klassischen Risikofaktoren der Fall war.

In Deutschland liegt die Inzidenz ischämischer Schlaganfälle bei 160 – 240 / 100.000 und die Mortalität nach einem Jahr beträgt ca. 25%, wobei die unterschiedlichen Schlaganfallarten und -subtypen erhebliche Unterschiede aufweisen. Schon heute ist der Schlaganfall die häufigste Ursache dauerhafter Behinderung in Industrieländern und die teuerste Krankheit überhaupt.

3.2. Schlaganfall Definition und Epidemiologie

Als einen Schlaganfall bezeichnet man ein plötzlich einsetzendes, neurologisches Defizit durch eine zentralnervöse Ischämie oder Hämorrhagie. Hierbei machen die ischämischen Schlaganfälle mit einem Anteil von ungefähr 85 % den Hauptanteil aus, wohingegen intrazerebrale und sonstige intrakranielle Blutungen einen Anteil von zehn bis 15 % ausmachen.

Da in dieser Studie ausschließlich Schlaganfälle, deren Ursache ein ischämisches Geschehen zu Grunde liegt, berücksichtigt wurden, soll an dieser Stelle auch hauptsächlich darauf eingegangen werden.

Der ischämische Schlaganfall wird durch einen Gefäßverschluss verursacht, welcher in seiner Folge zum Verlust der Sauerstoff- und Glukoseversorgung führt. Im Folgenden kommt es auch zu einem Zusammenbruch des Funktions- und schließlich auch Erhaltungsstoffwechsels im betroffenen Hirnareal.

3.3. Pathophysiologie und Ätiologie

Mit dem Sistieren der Blutversorgung kommt es innerhalb weniger Minuten zu einem Absterben der Neurone innerhalb des Infarktkerngebietes. Das um diesen Kern liegende Gebiet neuronaler Zellen wird dabei auch als ischämische Penumbra bezeichnet. Diese besteht aus zwar schon funktionell geschädigten, aber strukturell noch intakten Zellen, die über Kollateralkreisläufe zunächst noch mit Nährstoffen und Sauerstoff versorgt werden. Dieser Bereich kann bei nicht rechtzeitiger Rekanalisierung noch in das eigentliche Infarktgebiet einbezogen werden.

Während die biochemischen Prozesse des ischämischen Neuronenuntergangs gleichförmig ablaufen, lassen sich für den ischämischen Insult verschiedene Ursachen anführen:

- Atherosklerotische und atherothrombotische Stenosen der extra- und intrakraniellen hirnversorgenden Gefäße führen zu einer kritischen Minderperfusion distal der Stenose
- Arterio-arterielle Embolien, denen eine atherothrombotische Läsion vorausgeht und die zu einem partiellen oder vollständigen Verschluss intrakranieller Gefäße führen.
- Systemische Embolien (kardiale Ursachen, wie künstliche Herzklappen, VHF, kardiale Thromben, dilatative Kardiomyopathien, kürzlicher Myokardinfarkt oder intrakardiale Shunts)
- Lipohyalinosen kleiner Gefäße, die zu mikroangiopathischen lakunären Läsionen führen
- Seltener Ursachen, wie Dissektion hirnversorgender Gefäße, Vaskulitiden, oder Thrombosen im Rahmen von Gerinnungsstörungen

3.4. Risikofaktoren für ischämischen Schlaganfall

Zu den klassische Risikofaktoren des ischämischen Schlaganfalls zählen: Arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, zunehmendes Alter, Geschlecht, Carotisstenose, VHF, Diabetes mellitus, Hyperhomocysteinämie, Rauchen, Adipositas und Arteriosklerose.

Arterieller Hypertonus ist ein mit einem ischämischen Schlaganfall assoziierte Risikofaktor. Sowohl der systolische als auch der diastolische Blutdruck nehmen hier Einfluss auf das Risiko [Rodgers et al. 1996]. So zeigte eine unlängst veröffentlichte Meta-Analyse von randomisiert kontrollierten Studien die Reduktion des Schlaganfallrisikos um 30% - 40% durch antihypertensive Medikation [Lawes et al. 2004].

Männer mittleren Alters haben im Vergleich zu Frauen derselben Altersgruppe ein deutlich erhöhtes Risiko einen Schlaganfall zu erleiden [Bamford et al. 1988]. So konnten Petty et al. zeigen, dass dieses Risiko für Männer bis zu viermal so hoch sein kann [Petty et al. 1999].

Eine erweiterte Unterteilung, die aber ein nicht ganz so hohes Risiko erbrachte wie bei Petty, lieferten Jiang et al. Hier haben Männer sowohl für einen ischämischen Schlaganfall oder einen Schlaganfall unklarer Genese, als auch bei einer Kombination aller Schlaganfallsubtypen ein 21% bis 35% höheres Risiko zu erkranken. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen verschiedenen Rassen nachgewiesen werden, einen Schlaganfall zu erleiden [Jiang et al. 2006].

Hyperlipoproteinämie und Hypercholesterinämie sind sicher ein weiterer Risikofaktor für einen ischämischen Schlaganfall. Gleichzeitig muss man aber auch sagen, dass es sich dabei um einen noch nicht sehr etablierten Risikomarker handelt und die Studienlage dementsprechend nicht eindeutig ist [Amarenco et al. 2004]. Hierbei gilt zu unterscheiden, dass sowohl ein erhöhter Serumspiegel des LDL, wie auch der erhöhte Gesamtcholesterinspiegel und die erhöhten Serumtriglyzeride signifikant für ein erhöhtes Schlaganfallrisiko sprechen, ebenso wie ein allerdings erniedrigter High density lipoprotein (HDL)-Spiegel [Tanne et al. 2001] [Uddin et al. 2009]. Für den Gesamtcholesterinspiegel konnte kein signifikanter Effekt auf das Schlaganfallrisiko nachgewiesen werden [Wolf et al. 1991].

Diabetes mellitus hingegen ist ein ganz klarer Risikomarker für einen ischämischen Schlaganfall [Jamrozik et al. 1994]. Die Zahlen für die Begleiterkrankung eines Diabetes bei aufgetretenem Insult variieren zwischen 15% und 33% [Megherbi et al. 2003]. So konnte in einer Studie außer Diabetes mellitus nur noch das Alter als unabhängiger und signifikanter Risikofaktor für einen ischämischen Insult ermittelt werden [Petty et al. 1998].

Zigarettenrauchen ist in diesem Zusammenhang ebenfalls als ein wichtiger Risikofaktor zu nennen. Er ist sowohl über alle Altersschichten verteilt, als auch in beiden Geschlechtern und unterschiedlichen ethnischen Bevölkerungsteilen vertreten [Wolf et al. 1988]. In einer Metanalyse konnte gezeigt werden, dass sich das Risiko zwischen Nichtrauchern und Rauchern verdoppelt [Shinton et al. 1989]. In der Pathophysiologie spielen hierbei vor allem Veränderungen im Blutfluss [O'Donnell et al. 2001] und vaskuläre Stenosen [Kool et al. 1993] eine entscheidende Rolle.

Adipositas ist definiert als ein body mass index (BMI) von $> 30 \text{ kg/m}^2$. Obwohl Adipositas sicherlich stark mit anderen Risikofaktoren wie Hypertonus, Diabetes und Dyslipidämie assoziiert ist, variiert die Studienlage hinsichtlich der Beziehung zwischen Adipositas und Schlaganfall. Die Physicians' Health Studie konnte einen unabhängigen Zusammenhang zwischen zunehmender Adipositas und steigendem Schlaganfallrisiko nachweisen [Kurth et al. 2002].

Carotisstenosen stellen sowohl für ischämische Schlaganfälle wie auch für transitorisch ischämische Attacken einen relevanten Risikofaktor dar [Iannuzzi et al. 1995]. So konnte bei Patienten mit symptomatischen, atherosklerotisch bedingten Carotisstenosen von $>70\%$ der Nutzen einer Carotis Thrombendarteriektomie eindeutig verifiziert werden [Mayberg et al. 1991].

Kardiogen verursachte zerebrale Embolien kommen mit einer Häufigkeit von bis zu 20% vor, wobei wiederum in circa 50% der Fälle VHF die mit Abstand häufigste Ursache darstellt. Hierbei stellt sowohl persistierendes als auch paroxysmales VHF ein hohes Risiko für das Erleiden eines Schlaganfalls dar [Wolf et al. 1987].

Das auch eine Hyperuricämie ein moderater Risikomarker sowohl für die Inzidenz als auch die Mortalität bei Schlaganfällen darstellt, legt auch eine aktuelle Metaanalyse nahe [Kim et al. 2009].

3.5. ADMA und sein Zusammenhang mit dem Schlaganfallrisiko

Bis zum Beginn dieser Arbeit gab es nur vereinzelt Studien, die den Zusammenhang zwischen dem Schlaganfallrisiko und ADMA untersucht haben.

Zum Einen zeigte eine südkoreanische Studie mit 52 Patienten und 32 Kontrollen, dass Patienten mit ischämischen Schlaganfällen signifikant höhere ADMA-Spiegel aufwiesen als die Kontrollgruppe, zum Anderen, dass eine Korrelation zwischen einem erhöhtem Risiko und höheren Homocysteinplasmaspiegel bestehen könnte [Yoo et al. 2001].

Etwas später erschien eine schwedische Veröffentlichung mit 363 Patienten und 48 Kontrollen, die zu dem Ergebnis kam, dass ADMA einen schwachen, unabhängigen Marker für das Schlaganfallrisiko darstelle, zudem aber ein starker Prädiktor für das TIA-Risiko sei. Darüber hinaus stellte sich eine signifikante Erhöhung von SDMA-Spiegeln bei dem Subtyp des kardioembolischen Insults heraus [Wanby et al. 2006].

3.6. Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, bei einem Patientenkollektiv, das einen Schlaganfall erlitten hat, mit der ersten Routineblutentnahme auf der Schlaganfallstation die ADMA-, SDMA- und L-Arginin-Plasmakonzentration zu bestimmen und in einem Follow-up von 30 Tagen alle Komplikationsverläufe zu dokumentieren, um zu elaborieren, ob ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten ADMA-Plasmakonzentration und dem Risiko einen Schlaganfall zu erleiden oder auch zu einem komplikationsträchtigerem Verlauf hergestellt werden kann.

4. Material und Methoden

4.1. Studienprotokoll und Patientenauswahl

Für das Studienprotokoll bestand ein positives Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg am 27.03.2009 (UKE-KP 2007/001). Das schriftliche Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie wurde von allen Patienten nach eingehender Aufklärung eingeholt. Wenn der Gesundheitszustand des Patienten dieses nicht zuließ, erfolgte eine Aufklärung nächster Angehöriger oder eines gesetzlich bestellten Betreuers.

Im Zeitraum von April 2007 bis August 2008 wurden 141 Patienten in die Studie aufgenommen, die die Ein- und Ausschlusskriterien (siehe 3.3) erfüllten.

Hierfür kamen alle Patienten in Frage, die mit einer Erstdiagnose eines cerebrovaskulären Geschehens in der Notaufnahme der Asklepiosklinik Harburg eingewiesen worden waren.

4.2. Primärer und sekundärer Endpunkt

Als primärer Endpunkt wurde ein kombinierter Endpunkt entweder durch Tod (jeglicher Ursache) oder jeglicher Art von Re-Insult, Myokardinfarkt oder akutes Koronarsyndrom, dekompensierte Herzinsuffizienz oder schwere Herzrhythmusstörungen festgelegt.

Durch den sekundären Endpunkt wurden auch akutes Nierenversagen, Pneumonie oder Sepsis als Ereignisse eingeschlossen.

4.3. Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien waren für diese Studie die stationäre Aufnahme mit einer der folgenden Diagnosen: Schlaganfall (International Statistical Classification of Diseases (ICD) I64), TIA (ICD G45.92), SAE (ICD I67.3, I63.8), ein Alter des Patienten von über 18 Jahren, das schriftliche Einverständnis zur Teilnahme an der Studie entweder durch den Patienten selbst, einen direkten Angehörigen oder einen gesetzlich bestellten Betreuers und die Möglichkeit zur telefonischen Kontaktaufnahme nach Entlassung aus der Klinik.

Zu den Ausschlusskriterien zählten die gestellte Diagnose akutes Koronarsyndrom innerhalb der letzten zwei Wochen vor der Studie, ein operativer Eingriff jedweder Art innerhalb der letzten 12 Wochen vor der Studie, Schwangerschaft oder Stillzeit, eine dekompensierte Herzinsuffizienz Stadium New York Heart Association (NYHA) IV (Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten, auch im Ruhezustand), kardiogener Schock innerhalb der letzten 12 Monate oder das Vorliegen eines malignen oder anderen, die Lebenserwartung auf weniger als 12 Monate einschränkenden Leidens.

4.4. Ablauf der Studie

Nach einer ausführlichen Erläuterung des Studienzieses und schriftlicher Einwilligung durch den Patienten einerseits, oder bei vorliegender Nichteinwilligungsfähigkeit durch den erlittenen Schlaganfall durch einen direkten Angehörigen oder einen gerichtlich bestellten Betreuer andererseits, erfolgte eine Anamneseerhebung. Zusätzlich zur morgendlichen Routineblutentnahme (obligatorische Bestimmung: S-Kreatinin, C-reaktives Protein (CRP), Quick, Internationale Normalized ratio (INR), Partial Thromboplastin Time (PTT), Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten, Trombozyten, Glykohämoglobin (HbA_{1c}), Glucose, Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyzeride) wurde zur Bestimmung von Arginin, ADMA SDMA und LNNMA ein 9 ml Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)- Röhrcchen abgenommen, welches im Vorfeld mit 10µl einer 20 mM N(omega)-hydroxy-nor-l-arginine –Lösung (nor-NOHA) beimpft worden war.

Die Anamneseerhebung erfolgte standardisiert und wurde in einem dafür entworfenen Erhebungsbogen dokumentiert (s. Anhang).

Dazu wurden Vorerkrankungen, wie Myokardinfarkt, koronare Herzerkrankung, VHF, Adipositas, Hyperlipoproteinämie, Hyperhomocysteinämie, Herzinsuffizienz, Artierieller Hypertonus, Diabetes mellitus, Stenosen der Arteria carotis interna und Nikotinabusus erfragt. Zudem wurde dokumentiert, ob es sich hierbei um ein Erst- oder Reereignis handelt.

Um eine vergleichbare Aussage über den Schweregrad des erlittenen Schlaganfalls treffen zu können, wird der National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) benutzt [Brott et al. 1989], welcher im späteren Verlauf nochmals besonders für klinische Studien modifiziert worden ist [Lyden et al. 2001]. Hierzu wurden die Patienten direkt in der Notaufnahme durch einen Neurologen erst untersucht und der Befund wird in einer Zahl dokumentiert.

Im Verlauf wurden bei allen Patienten zur bildgebenden Diagnostik ein cranielle Computertomographie (cCT) oder gegebenenfalls auch ein MRT durchgeführt und im Anschluss daran wurden sie anhand der Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST)-Klassifikation zur Einteilung der Insulte nach Untergruppen wie folgt eingeordnet:

Arteriosklerose der großen hirnversorgenden Arterien (zerebrale Makroangiopathie)

- Symptomatik oder Infarkt auf ein Gefäßterritorium beschränkt
- Infarkt kortikal oder Infarktdurchmesser > 1,5 cm
- > 50%ige Stenose der extra- oder intrakraniellen hirnversorgenden Arterien
- Ausschluss anderer Ätiologien (z.B. kardiogene Emboliequelle, Mikroangiopathie).

Kardiogene Embolien

- Embolie . Klinik passend zu thrombembolischem Insult
- Infarkte in mehreren Gefäßterritorien oder Infarkt rein kortikal oder Infarktdurchmesser > 1,5 cm
- Signifikante kardiale Emboliequelle
- Ausschluss anderer Ätiologien (z.B. Stenosehirnversorgender Arterien, Mikroangiopathie)

Zerebrale Mikroangiopathie

- Symptomatik passend zu lakunärem Insult
- Infarkt subkortikal und Infarktdurchmesser < 1,5 cm
- Ausschluss anderer Ätiologien. (z.B. Makroangiopathie, kardiale Emboliequelle)

Andere Ätiologie wie z.B.

- Gefäßdissektion
- Zerebrale Vaskulitis
- Thrombophilie
- Mitochondriopathie
- Iatrogen (perioperativ, während Angiographie)

Unklare Ätiologie .

- Keine potentielle Ätiologie oder mehr als eine potentielle Ätiologie (z.B. Karotisstenose & VHF)
- Unvollständige Diagnostik

Im weiteren Verlauf wurde die Art der antithrombotischen Therapie dokumentiert. Dabei wurde zwischen Lyse, niedermolekularem oder unfraktioniertem Heparin, einer Marcumarisierung oder Thrombozytenaggregationshemmern unterschieden.

Abschließend erfolgte eine Dokumentation der medikamentösen Dauertherapie des Patienten, um eine Einordnung der Schwere der Vorerkrankungen treffen zu können.

Nach einem Beurteilungszeitraum von 30 Tagen erfolgte das abschließende Follow-up, welches ebenfalls mit einem dafür konzipierten Bogen dokumentiert wurde (s. Anhang). Hierfür wurde zur Beurteilung der zurückbehaltenen Beeinträchtigungen, beziehungsweise der stattgefundenen Verbesserungen, der mRS benutzt. Hierbei handelt es sich um eine allgemein gültige und genutzte Skala, um den Grad der Beeinträchtigung/ Behinderungen im täglichen Alltag von Patient wiederzugeben, die einen Schlaganfall erlitten haben. Diese wurde von J. Rankin bereits 1957 in seinen Grundzügen vorgestellt [Rankin 1957] und 1988 nochmals einer Überarbeitung unterzogen [Bonita et al. 1988].

Dabei handelt es sich um einen Score von 0 - 6, der abgestuft die unterschiedlichen Beeinträchtigungen des Patienten wie folgt wiedergibt:

- 0 = keine Symptome
- 1 = keine wesentlichen Funktionseinschränkung trotz auftretender Symptome; der Patient kann alle gewohnten Aufgaben und Aktivitäten verrichten
- 2 = geringgradige Funktionseinschränkung; der Patient ist unfähig alle früheren Aktivitäten zu verrichten, ist aber in der Lage, die eigenen Angelegenheiten ohne Hilfe zu erledigen
- 3 = mäßiggradige Funktionseinschränkung; der Patient bedarf einiger Unterstützung, ist aber in der Lage ohne Hilfe zu gehen
- 4 = mittelschwere Funktionseinschränkung; der Patient ist unfähig ohne Hilfe zu gehen und unfähig ohne Hilfe für die eigenen körperlichen Bedürfnisse zu sorgen

5 = schwere Funktionseinschränkung; der Patient ist bettlägerig und bedarf ständiger Pflege und Aufmerksamkeit

6 = Patient ist verstorben

Ein Vergleich verschiedener Scores, wie zum Beispiel der Scandinavian Stroke Scale (SSS), der mRS, der Barthel Index (BI) oder auch der modified National Institutes of Health Stroke Scale (mNIHSS) zur Einschätzung des Schweregrades zeigte keine wesentlichen Abweichungen und bescheinigte eine sinnvolle Aussagekraft, die eine Interpretation der Ergebnisse und Vergleiche untereinander zulässt [Govan et al. 2009].

Desweiteren wurde die Dauer des stationären Aufenthaltes dokumentiert und es erfolgte eine Erfassung der vorher festgelegten Endpunkte.

4.5. Definition der Ereignisse

Das akute Krononarsyndrom fasst die Diagnosen instabile Angina pectoris und akuten Myokardinfarkt zusammen.

Die instabile Angina pectoris diagnostiziert sich durch einen über einen Zeitraum von 30 Minuten und länger anhaltenden präkordialen Brustschmerz. Dieser ist entweder als Erstangina aufgetreten oder durch sich wiederholende Angina Ereignisse, die sich in Schwere, Häufigkeit, Dauer, durch zunehmenden Bedarf antianginöser Therapie oder auch in Ruhe auftretend von den „bekannteren“ Angina Pectoris Anfällen unterscheiden.

Die Diagnose eines Myokardinfarktes erfolgte nach einer Unterscheidung von ST-segmented elevation myocardial infarction (STEMI) und non ST-segmented-elevation myocardial infarction (NSTEMI).

Die Diagnose eines STEMI beinhaltet neben einem positiven Troponin-Tests auch den elektrokardiografischen Nachweises von neu aufgetretenen ST-Streckenveränderungen ($\geq 0,1$ mV in mehreren Ableitungen) oder Q-Wellen.

Um einen NSTEMI handelt es sich, wenn nur ein positiver Troponin-Test und keine elektrokardiografischen Nachweise vorliegen.

4.6. Bestimmung von ADMA im Plasma

Die Bestimmung der Konzentrationen von ADMA, SDMA, L-Arginin und LNNMA im Blutplasma erfolgt mittels der in unserem Institut entwickelten Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) [Schwedhelm et al. 2005].

Hierzu werden die Blutproben nach Entnahme für die Dauer von 15 Minuten bei 2000 u/min und 4 °C zentrifugiert. Im Anschluss erfolgt bis zu Analyse die Lagerung des Zellüberstands bei -20°C beziehungsweise des Hämato krit bei -80°C.

Vor der durchzuführenden Analyse werden die Proben und der für die Messung benötigte interne Standard ([²H₆]-ADMA und L-[²H₇]Arginin) auf Raumtemperatur aufgetaut und der Standard in der benötigten Menge mit Methanol verdünnt.

Anschließend wird eine MultiScreen 96well-Platte auf einer Polypropylenplatte / Masterblock positioniert. Vom verdünnten Standard werden nun jeweils 100 µl in die Vertiefungen der MultiScreen 96well-Platte mittels einer Mehrkanalpipette pipettiert. Hierzu werden 20 µl Plasma zugegeben. Daraufhin wird die Platte bei Raumtemperatur für fünf Minuten geschüttelt. Das Pipettieren erfolgt so, dass pro Platte maximal 84 Proben gemessen werden können, da zusätzlich eine Qualitätskontrolle mit je drei niedrigen, mittleren und hohen Konzentrationen angelegt wird. Darüber hinaus wird pro Messzyklus noch eine Kalibrierkurve angelegt.

Danach wird die MultiScreen 96well-Platte zusammen mit der Polypropylenplatte / Masterblock bei 2000 u/min in einer Plattenzentrifuge zentrifugiert. Im Anschluss erfolgt eine optische Kontrolle. Die Polypropylenplatte / Masterblock wird nun in den zuvor auf 100°C aufgeheizten Vakuumtrockenschrank gestellt. Nach 30 Minuten erfolgt ein langsames Belüften. Nach einer fünfminütigen Ruhephase unter dem Abzug, wird je 100 µl butanolische Salzsäure mittels Mehrkanalpipette hinzugefügt. Die Platte wird, um eine quantitative Derivatisierung zu gewährleisten, mit einer Alu-Klebefolie verschlossen und für wiederum 30 Minuten im Vakuumtrockenschrank (dieses Mal ohne Vakuum) belassen. Nun erfolgt nach Entfernen der Klebefolie eine Verdampfung der butanolischen Salzsäure bei 100°C.

In jedes Well der wieder auf Raumtemperatur gebrachten Platte werden nun 300 µl Methanol/Wasser 50/50 gegeben. Im Elektrospray-Interface kommt es zur Ionisierung. Hierbei werden im ersten Massenfilter bestimmte Ionen selektiert, die dann in einer Stoßzelle mit Argonmolekülen kollidieren und somit weiterfragmentiert werden. Diese typischen Fragmente wiederum werden im zweiten Massenfilter selektiert. So wird ein Übergang der Ionen m/z 259.3 zu m/z 214 für ADMA, m/z 259.3 zu m/z 228 für SDMA und m/z 231.3 zu m/z 70 für L-Arginin herbeigeführt.

4.7. Angewandte statistische Verfahren

Alle Daten wurden auf ihre Normalverteilung mit dem Kolmogov-Smirnov-Verfahren getestet. Stetige Variablen wurden bei Vorliegen einer Normalverteilung als arithmetisches Mittel +/- Standard Deviation (SD) angeben, ansonsten durch den Median mit 25% bis 75% Perzentilen. Zusammenhänge der verschiedenen Variablen wurden mit Hilfe von Spearman Korrelations-Koeffizienten untersucht und bewertet. Unterschiede zwischen nicht im direkten Bezug stehender Variablen wurden mittels parametrischem Student's T-Test verglichen. Kategorische Daten wurden mittels Chi-Quadrat-Test untersucht. Für die univariaten Analysen wurde der Zusammenhang zwischen den Perzentilen von ADMA, SDMA und L-Arginin und der Mortalität durch Kaplan-Meier-Kurven dargestellt und die Signifikanz mit Hilfe des log-rank-Tests bestätigt. Zudem wurde dieser Zusammenhang in multivariaten Analysen unter Berücksichtigung und Einbeziehung der Variablen untersucht, welche als Risikofaktoren für einen Schlaganfall anerkannt sind.

Zum Umgang mit fehlenden Daten: Bei 3 Patienten waren die Blutfette (Cholesterin, HDL, LDL und Triglyzeride) nicht bestimmt worden. Bei 2 Patienten fehlte der HbA_{1c}-Wert. ADMA-, SDMA- und L-Arginin-Konzentrationen und ein vollständiges Follow-up waren bei allen Patienten vorhanden. Nur Patienten mit vollständigen Daten in allen Variablen des betrachteten Modells wurden in den multivariaten Cox-Regressionsanalysen berücksichtigt.

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Tests zweiseitig durchgeführt. Ein p-Wert von < 0,05 wurde als signifikant betrachtet. Für alle statistischen Analysen wurde die Statistical Product and Service Solution (SPSS) Version v15.0 für Windows (SPSS Inc.) angewandt.

5. Ergebnisse

5.1. Erhebungsdaten aller Patienten

Es konnten 137 Patienten mit der Diagnose eines akuten cerebralen ischämischen Geschehens in die Studie eingeschlossen werden, von denen 49 männlich waren. Das durchschnittliche Lebensalter lag bei 70 ± 11 Jahren, wobei die jüngste Patientin gerade erst 38 Jahre alt war. 16 Patienten hatten in der Vorgeschichte schon einen Myokardinfarkt und 30 von ihnen hatten ein bekanntes VHF. 108 Patienten litten unter einem arteriellen Hypertonus und erhielten hierfür eine Dauermedikation und 48 von ihnen waren Raucher mit einer Anamnese vom <10 packyears (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Klinische und demographische Daten des Patientenkollektives

Variable	
Patienten(n)	137
Alter [Jahre]	70 (± 11)
männlich, n (%)	59 (43)
Raucher, n (%)	48 (35)
Koronare Herzkrankheit (KHK), n (%)	17 (12,4)
Diabetes, n (%)	33 (24,1)
Arterieller Hypertonus, n (%)	108 (78,8)
Myokardinfarkt, n (%)	16 (11,7)
VHF, n (%)	30 (21,9)
Diastolischer Blutdruck [mmHg]	83.9 ($\pm 10,4$)
Systolischer Blutdruck [mmHg]	143.2 ($\pm 16,6$)
Hyperlipidämie, n (%)	73 (53,3)
CRP [mg/L]	15.5 ($\pm 28,7$)
Triglyzeride [mg/dl]	159.2 ($\pm 290,9$)
Cholesterin [mg/dl]	191.3 ($\pm 44,4$)

Leukozyten [/nl]	8.6 ($\pm 2,7$)
Thrombozyten [/nl]	232.5 ($\pm 67,1$)
S-Kreatinin [mg/dl]	1.1 ($\pm 0,9$)

Ergebnisse als Mittelwert dargestellt (\pm SD)

5.2. Plasma-Spiegel für L-Arginin, ADMA und SDMA

Die mittleren Plasma-Spiegel für L-Arginin, ADMA und SDMA lagen bei $59,2 \pm 24,4 \mu\text{mol/l}$, $0,58 \pm 0,12 \mu\text{mol/l}$ und $0,58 \pm 0,42 \mu\text{mol/l}$ (siehe Tabelle 2)

Tabelle 2: Übersicht L-Arginin, ADMA und SDMA Plasmaspiegel und Perzentilen

	L-Arginin	ADMA	SDMA
Mittelwert	59,18	0,583	0,576
Median	55,80	0,590	0,470
Standardabweichung	24,393	0,117	0,419
Perzentile 25	43,85	0,500	0,400
Perzentile 50	55,80	0,590	0,470
Perzentile 75	72,00	0,660	0,570

L-Arginin SDMA und ADMA Plasma-Spiegel wurden in univariaten Analysen mit den verschiedenen erhobenen, demographischen Variablen und Blutwerten in Beziehung gesetzt. Hierbei ergab sich kein signifikanter Zusammenhang bei L-Arginin und ADMA. Bei SDMA konnte ein signifikanter Zusammenhang mit dem systolischen Blutdruck von $p < 0,05$ und bei S-Kreatininspiegel, estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) und CRP von sogar $p < 0,001$ ermittelt werden.

Tabelle 3: Variablen in einer Querschnittsanalyse mit L-Arginin SDMA und ADMA

	L-Arginin	SDMA	ADMA
Alter	-0,068	0,455**	0,103
S-Kreatinin [mg/dl]	0,034	0,613**	0,106
eGFR [ml/min/1.73m ²]	0,035	-0,613**	-0,080
CRP [mg/l]	-0,096	0,260**	0,147
Triglyzeride [mg/dl]	0,050	-0,094	0,090
Gesamtcholesterin [mg/dl]	0,064	-0,134	-0,044
VHF, n (%)	-0,025	0,080	-0,132
Systolischer Blutdruck [mmHg]	0,052	0,215*	0,149
Diastolischer Blutdruck [mmHg]	-0,090	0,079	0,026

Ergebnisse als Spearman-Korrelations-Koeffizienten dargestellt

* p<0,05

** p<0,001

5.3. Dimethylarginine und Ereignisse im 30 Tage Follow-up

Während der Nachbeobachtungsphase von 30 Tagen nach dem akuten cerebralen ischämischen Erstereignisses erreichten 25 Patienten den primären Endpunkt. Hiervon starben 5 Patienten. 9 Patienten erlitten einen Re-Insult, welcher gemäß neurologischen Kriterien zum Erstereignis gezählt wird. 3 Patienten erlitten in dieser Phase einen Myokardinfarkt und 8 Patienten mussten wegen verschiedener anderer Komplikationen erneut auf der Schlaganfallstation aufgenommen werden. Dieses Patientenkollektiv war im Vergleich zur Gruppe ohne Ereignis älter und hatte einen erhöhten CRP- und SDMA-Plasmaspiegel. Bei allen anderen Variablen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Tabelle 4: Gegenüberstellung von Patienten mit komplikationslosem Verlauf und Patienten, welche ein Ereignis nach definiertem primärem Endpunkt hatten im Vergleich von verschiedenen Variablen (laborchemisch und klinisch)

	Patienten ohne Ereignis	Patienten mit Ereignis	p
Patienten, n (%)	112 (81,8)	25 (18,2)	
Alter, [Jahre]	69 (±11)	75 (±10)	0,45
Arterieller Hypertonus, n (%)	86 (79,6)	22 (20,4)	0,21
VHF, n (%)	22 (73,3)	8 (26,7)	0,18
Myokardinfarkt, n (%)	14 (87,5)	2 (12,5)	0,53
Diabetes mellitus, n (%)	29 (87,9)	4 (12,1)	0,30
Raucher, n (%)	43 (89,6)	5 (10,4)	0,08
eGFR [ml/min/1,73m ²]	84,2 (±42,4)	59,8 (±34,2)	0,90
CRP [mg/l]	10,6 (±18,3)	37,9 (±50,3)	<0,001
ADMA [µmol/l]	0,58 (±0,12)	0,59 (±0,12)	,89
SDMA [µmol/l]	0,51 (±0,24)	0,89 (±0,80)	<0,001
L-Arginine [µmol/l]	60,4 (±25,4)	54,8 (±21,0)	0,32

Ergebnisse als Mittelwert (±SD) dargestellt

5.4. Kaplan-Meier-Kurven

Um einen Zusammenhang zwischen der Mortalität und den Plasmaspiegeln von L-Arginin, SDMA und ADMA herstellen zu können, wurden Kaplan-Meier-Kurven für die verschiedenen Tertilen erstellt. Hierbei zeigte sich, dass die Überlebensrate im Bezug zu den steigenden SDMA-Tertilen signifikant abnahm. Während es in der unteren Tertile nur 6,4% der Patienten waren, betrug der Wert in der mittleren Tertile schon 12,5%. In der oberen Tertile waren es sogar 30,4% der Patienten, die ein Ereignis hatten.

Weder bei L-Arginin noch bei ADMA konnte hierbei ein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden.

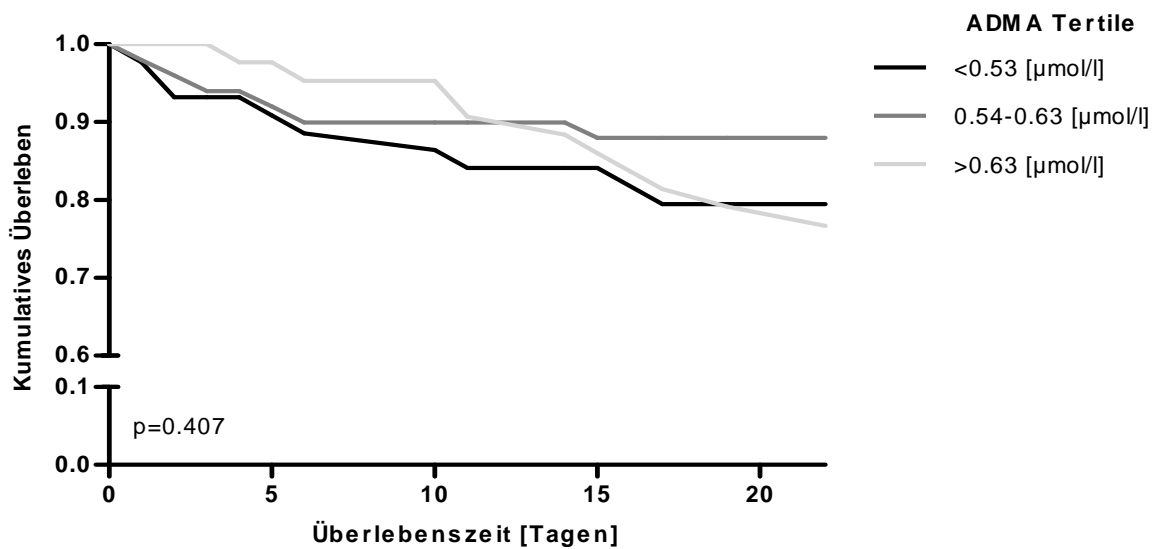


Abbildung 5: ADMA-Tertile

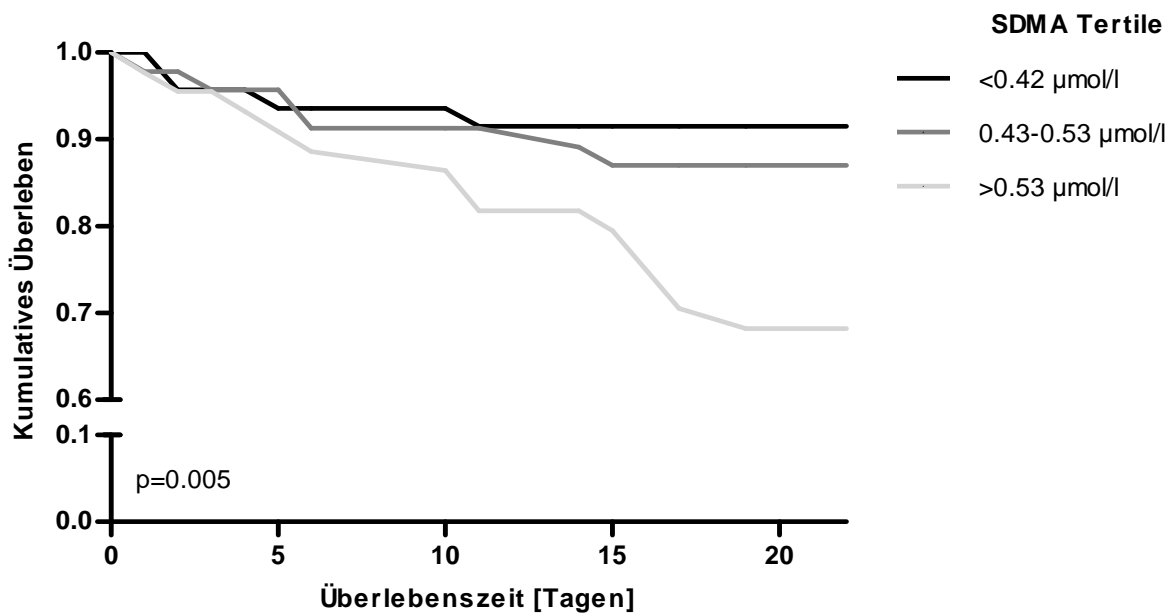


Abbildung 6: SDMA-Tertile

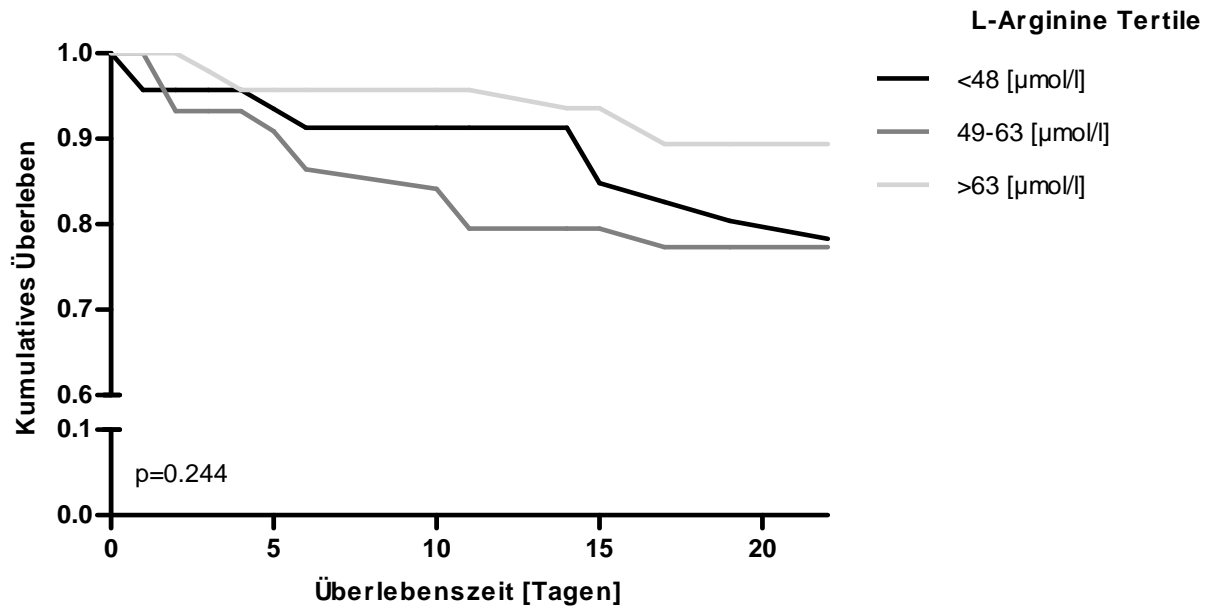


Abbildung 7: L-Arginin-Tertile

Tabelle 5: Zuordnung aller Ereignisse in die jeweilige SDMA- Tertile

SDMA	VHF	Myokardinfarkt	Re-Insult	Wiederaufnahme auf Schlaganfallstation (SAS)	Verstorben	Gesamt
Tert. 1	0	0	2	1	1	4
Tert. 2	0	1	3	1	1	7
Tert. 3	1	2	4	5	3	15*

* $p=0,004$

6. Die „Leeds“-Studie

6.1. Überblick

In dieser Studie [Carter et al. 2007] wurde die Mortalität und ihre Beeinflussung durch unterschiedliche Parameter erforscht. Hierfür wurden 545 Patienten (274 männlich und 271 weiblich), die mit der Diagnose Schlaganfall in eine von vier Kliniken des Großraumes Leeds aufgenommen worden waren, mit einer altersgematchten gesunden Kontrollgruppe von 330 Probanden (139 männlich 191 weiblich) über einen mittleren Zeitraum von 7,4 Jahren untersucht. In dieser Studie erfolgte die Klassifikation des Schlaganfalles anders als in der vorliegenden Arbeit nach Lokalisation des Stromgebietes unter Berücksichtigung der Kriterien des Oxfordshire Community Stroke Projects [Bamford et al. 1991]. Hier erfolgt eine Unterteilung in 4 Subgruppen:

- **Anterior Circulation Infarct** ,das vordere (die Carotiden) betreffende Stromgebiet mit einer Unterteilung von
 - **Partial Anterior Circulation Infarct (PACI)**, hauptsächlich auf die kortikalen Schichten begrenztes Infarktareal
 - **Total Anterior Circulation Infarct (TACI)**, die kortikalen und subkortikalen Schichten betreffendes Infarktareal
- **POosterior Circulation Infarct (POCI)**, das vertebrobasiläre Stromgebiet betreffende Infarktareale
- **LACunar Infarcts (LACI)**, vornehmlich die tiefen Stromgebiete betreffende Infarktareale

Patienten bei denen eine eindeutige Zuordnung zu einer Gruppe nicht möglich war (n=7), wurden aus der Studie ausgeschlossen. Die Studie zeigte, dass 343 Patienten (63%) und 73 Probanden (22%) aus der Kontrollgruppe verstarben (Siehe Tabelle 6). Alle Patienten, die innerhalb der ersten 30 Tage verstarben (n=32) wurden in einer separaten Gruppe betrachtet, da man dieses direkt auf das akute Ereignis zurückführte.

Tabelle 6: Vergleich demographischer und klinischer Gegebenheiten zwischen Patienten mit einem Überleben des Medians von 7,4 Jahren und Patienten, die innerhalb von 30 Tagen nach akutem Ereignis oder im späteren Verlauf gestorben sind.

	Überlebende (n=202)	verstorben Tage (n=311)	>30 verstorben Tage (n=32)
Alter in Jahren	64 (55–73)	76 (69–82)†	76 (68–82)†
Männliches Geschlecht	106 (0,53)	154 (0,50)	14 (0,44)
Raucher			
ehemalig	91 (0,45)	106 (0,34)*	9 (0,28)
aktuell	42 (0,21)	55 (0,18)	5 (0,16)
Schlaganfallsgruppen			
LACI	93 (0,46)	89 (0,28)†	2 (0,06)†‡
PACI	63 (0,31)	105 (0,34)	9 (0,28)
POCI	22 (0,11)	34 (0,11)	1 (0,03)
TACI	24 (0,12)	83 (0,27)	20 (0,63)†‡
Vorangegangener Insult/TIA	39 (0,19)	116 (0,37)†	7 (0,22)
VHF	16 (0,08)	73 (0,24)†	14 (0,44)†‡
KHK	36 (0,18)	105 (0,34)†	14 (0,44)*
Diabetes	27 (0,13)	48 (0,15)	6 (0,19)
Arterieller Hypertonus	87 (0,43)	123 (0,40)	11 (0,34)
Periphere Arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)	16 (0,08)	47 (0,15)*	8 (0,25)*
Aspirineinnahme bei Insult	36 (0,18)	97 (0,31)*	11 (0,34)

Alter als median angegeben (25. und 75. Perzentile); übrige Daten als Zahlen (Häufigkeit).

* $P < 0.05$ verglichen mit Überlebenden nach Bonferroni Angleichung.

† $P < 0.001$ verglichen mit Überlebenden nach Bonferroni Angleichung.

‡ $P < 0.05$ verglichen mit nach dem 30ten Tag Verstorbenen nach Bonferroni Angleichung.

Somit zeigte sich hierbei im Vergleich zu der gesunden Kontrollgruppe ein 3-fach erhöhtes Risiko auch im langfristigen Verlauf nach einem Schlaganfall zu versterben. Desweiteren zeigte sich, dass sowohl Alter und Art des Schlaganfalls, als auch vorangegangene Insulte, VHF, KHK, pAVK, Acetylsalicylsäure (ASS)-Therapie und Nichtraucher signifikant mit der Mortalität assoziiert sind.

6.2. Dimethylarginine in der Leeds-Studie

Es war uns möglich die Proben dieser Studie in unserem Institut auf ihre ADMA-, SDMA- und L-Arginin-Plasmaspiegel zu untersuchen und somit eine erste Studie zum Zusammenhang von L-Arginin und seinen Dimethylderivaten mit der Sterblichkeit nach ischämischen Schlaganfällen über einen mittleren Zeitraum von 7,4 Jahren zu erstellen.

Hierbei zeigte sich in den univariaten Analysemodellen, dass sowohl L-Arginin, ADMA, SDMA als auch das L-Arginin: ADMA-Verhältnis und das L-Arginin : SDMA-Verhältnis in einem signifikanten Zusammenhang stehen. In den multivariaten Analysen zeigte sich SDMA als ein unabhängiger Risikomarker für die Mortalität.

Über die Grundlagen der in dieser Studie erhobenen Untersuchungen gibt Tabelle 7 einen kurzen Überblick

Tabelle 7: Vergleich demographischer und klinischer Gegebenheiten zwischen Überlebenden und mehr als 30 Tage nach akutem Ereignis Verstorbenen

	Überlebende (n=163)	verstorben Tage (n=231)	>30 p-wert
Alter in Jahren	64 (57-73)	74 (69-82)	<0,001
Männlich	84 (0,52)	126 (0,55)	0,560
Raucher			
aktuell	33 (0,20)	44 (0,19)	0,051
ehemalig	75 (0,46)	82 (0,36)	
Schlaganfallsgruppen			
LACI	75 (0,46)	64 (0,28)	0,001
PACI	51 (0,31)	80 (0,35)	
POCI	15 (0,09)	25 (0,11)	
TACI	22 (0,14)	62 (0,27)	
Vorangegangener Insult/TIA	27 (0,17)	85 (0,37)	<0,001
VHF	13 (0,08)	52 (0,23)	<0,001

KHK	30 (0,18)	81 (0,35)	<0,001
Diabetes	19 (0,12)	39 (0,17)	0,150
Arterieller Hypertonus	70 (0,43)	93 (0,40)	0,590
pAVK	12 (0,07)	39 (0,17)	0,006
Aspirindauertherapie	25 (0,15)	70 (0,30)	0,001

Alter als median angegeben (25. und 75. Perzentile); übrige Daten als Zahlen (Häufigkeit).

6.3. Kaplan-Meier-Kurven multi- und univariater Analysen

Es ließ sich zeigen, dass ADMA – und SDMA-Werte bei Patienten, die verstorben sind, erhöht waren. In multivariaten Analysen stellte sich heraus, dass SDMA aber nicht ADMA ein unabhängiger Prädiktor für die Gesamtsterblichkeit bei Schlaganfällen ist. Bei den Kaplan-Meier-Kurven imponierte, dass das kumulierte Überleben bei steigenden ADMA- und SDMA-Spiegeln sank, wohingegen es bei höheren L-Argininspiegeln stieg.

Während ADMA, SDMA L-Arginin und L-NMMA nicht signifikant bei schon stattgefundenen Insulten oder den unterschiedlichen Schlaganfallssubtypen assoziiert waren, waren die SDMA-Spiegel bei Patienten, die ein VHF hatten, signifikant erhöht. Es konnte festgestellt werden, dass SDMA ein unabhängiger Prädiktor für die Gesamtmortalität bei Schlaganfällen darstellt und zwar auch unabhängig von der Nierenfunktion, welche man über die eGFR ermittelt hatte.

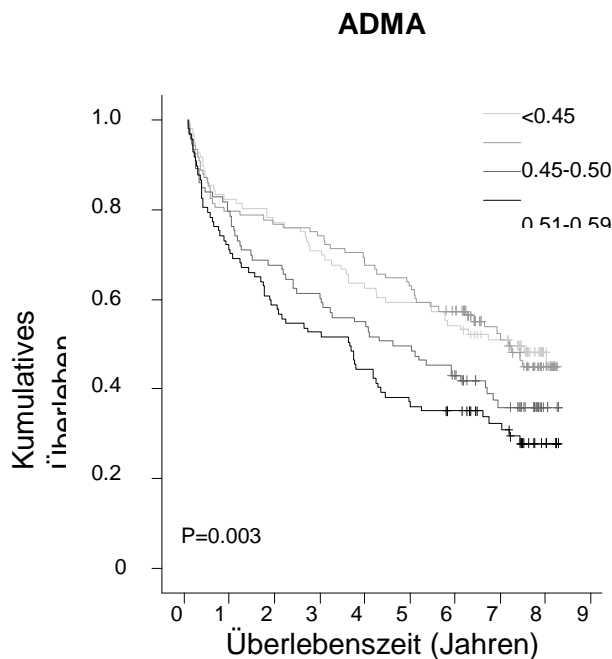


Abbildung 8: ADMA-Quartile

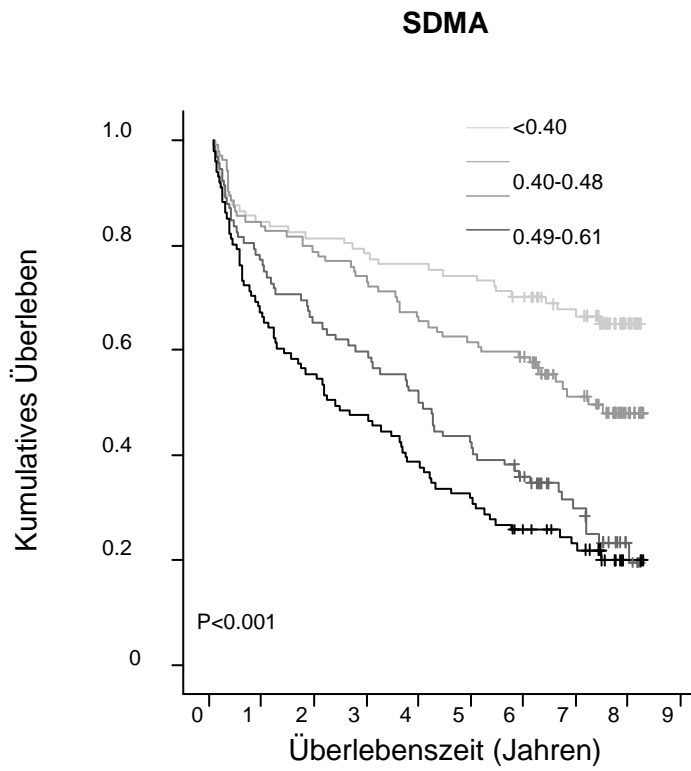


Abbildung 9: SDMA-Quartile

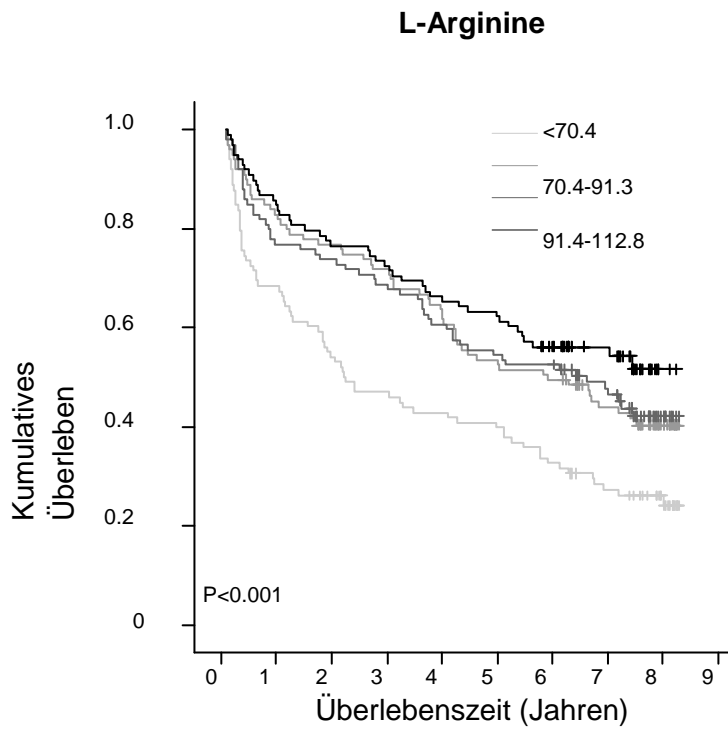


Abbildung 1: L-Arginin-Quartile

7. Diskussion

In dieser Studie lassen sich im Wesentlichen zwei Ergebnisse feststellen, die im Folgenden erläutert werden sollen.

Zum Einen lässt sich hieraus ableiten, dass ADMA keinen Marker für das Risiko in der akuten Phase eines ischämischen Insultes (die ersten 30 Tage) als Komplikation, ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden oder sogar zu versterben, darstellt. Bei der Untersuchung des Plasmaspiegels von ADMA war kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Patientenkollektiven festzustellen.

Dieses ist sicherlich als überraschend zu bewerten, da vorangegangene Studien durchaus einen Zusammenhang zwischen ischämischen Insulten und ADMA aufgezeigt hatten. So hatte im Vorfeld dieser Studie bereits eine südkoreanische Studie mit 52 Patienten und 32 Kontrollen zum Einen gezeigt, dass Patienten mit ischämischen Schlaganfällen signifikant höhere ADMA-Spiegel aufwiesen als die Kontrollgruppe, zum Anderen eine Korrelation zwischen einem erhöhtem Risiko und höheren Homocysteinplasmaspiegel bestehen könnte [Yoo et al. 2001]. Auch in einer schwedischen Veröffentlichung mit 363 Patienten und 48 Kontrollen kam man zu dem Ergebnis, dass ADMA einen schwachen, unabhängigen Marker für das Schlaganfallrisiko darstelle, zudem aber ein starker Prädiktor für das TIA-Risiko sei. Hier zeigte sich allerdings auch schon eine signifikante Erhöhung von SDMA-Spiegeln bei dem Subtyp des kardioembolischen Insults [Wanby et al. 2006]. Auch in neueren Studien ließen sich hier nachwievor Zusammenhänge aufzeigen. So ließen sich in einer Studie von 201 indischen Patienten, mit dem Nachweis eines ischämischen Insultes, im Vergleich zu 217 Kontrollen signifikant höhere ADMA-Plasmaspiegel nachweisen (1,49 $\mu\text{mol/l}$ gegenüber 0,97 $\mu\text{mol/l}$, bei $p < 0,001$) [Mamatha et al. 2010]. Hierbei gilt es aber anzumerken, dass es sich um ein deutlich jüngeres Patientenkollektiv (Alter zwischen 15 und 50) handelte. Auf die Bedeutung wird im späteren Verlauf dieser Diskussion noch näher eingegangen. In einer japanischen Studie wurden bei 116 Patienten im Rahmen einer medizinischen Routineuntersuchung die ADMA-Plasmaspiegel bestimmt, die vaskulären Risikofaktoren erfasst und mit 50 Patienten, die einen Schlaganfall erlitten hatten, verglichen. Auch hierbei zeigte sich in der Gruppe der Patienten mit einem Insult, ein erhöhter ADMA-Plasmaspiegel von 0,461 $\mu\text{mol/l}$ gegenüber 0,433 $\mu\text{mol/l}$ bei einem $p = 0,022$. Darüber hinaus fielen steigende ADMA-Plasmaspiegel mit zunehmenden vaskulären Risikofaktoren auf bei Patienten mit keinen Risikofaktoren verglichen mit Patienten mit ≥ 2 Risikofaktoren $p = 0,001$ [Nishiyama et al. 2010]. Bei einer Untersuchung von 2013 Patienten aus der Framingham-Studie, die bisher keinerlei Schlaganfallsymptome gezeigt

hatten, zeigte sich hier bei Bestimmung der ADMA-Plasmaspiegel und einer MRT-Untersuchung, um Hinweise auf schon stattgehabte stille Mikroinfarkte zu bekommen, ein signifikanter Zusammenhang [Pikula et al. 2009].

Darüber hinaus ließ sich nachweisen, dass SDMA einen Marker für das Risiko in der akuten Phase eines ischämischen Insultes (die ersten 30 Tage) als Komplikation, ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden oder sogar zu versterben, darstellt. SDMA Plasmaspiegel waren bei Patienten, die ein Folgeereignis erlitten hatten, verglichen mit Patienten ohne jegliches Ereignis, signifikant erhöht. Zudem ließ sich eine enge Verbindung von SDMA mit der Nierenfunktion der Patienten nachweisen, so dass bei Einbeziehung der eGFR in die statischen Modelle keine Signifikanz mehr zu erzielen war.

So zeigte eine Studie zur Untersuchung der Rückenmarksflüssigkeit bei Patienten, die einen akuten ischämischen Insult erlitten hatten, dass nicht ADMA sondern vielmehr SDMA als Zeichen der ischämisch induzierten Proteolyse in erhöhtem Maße nachzuweisen waren. So korreliert die Höhe der ADMA/SDMA- Spiegel hierbei auch signifikant mit der Schwere des Insultes, welcher, wie in dieser Studie ebenfalls mit Hilfe des NIHSS bestimmt worden war, signifikant [Brouns et al. 2009].

Das Studiendesign dieser Untersuchung war so konzipiert, dass es an die oben angeführte "Leeds-Studie" [Schulte et al. 2009] anknüpfte, in welcher nur Patienten eingeschlossen worden waren, welche die ersten 30 Tage nach akutem Ereignis überlebt hatten und die ihren Schwerpunkt auf der Langzeitmortalität hatte.

Der Haupteliminationsweg von ADMA ist, wie schon vorangehend beschrieben, die DDAH, welche ADMA in L-Citrullin und Dimethylamin spaltet [Leiper et al. 1999]. Ganz im Gegensatz dazu erfolgt die Elimination von SDMA in erster Linie über die Ausscheidung durch die Niere [Bode-Böger et al. 2006], obwohl es auch Hinweise auf die Möglichkeit des enzymatischen Abbaus gibt [Ogama et al. 1990].

Die Enzyme, die bei diesem angenommenen enzymatischen Stoffwechselweg beteiligt sein sollen, konnten beim Menschen bisher jedoch noch nicht nachgewiesen werden.

Zwar konnte sowohl für ADMA als auch SDMA ein Zusammenhang mit einer Beeinträchtigung der Nierenfunktion nachgewiesen werden, er ist aber für SDMA besser bewiesen und legt die Möglichkeit nahe, dass SDMA als ein Marker für die Nierenfunktion eingesetzt werden könnte [Kielstein et al. 2006; Nanayakarra et al. 2005].

In dieser Studie ließ sich die Bedeutung der Nierenfunktion für die SDMA-Plasmaspiegel bestätigen, da diese signifikant mit etablierten Markern für die Nierenfunktion, wie dem

Serumkreatinin und der eGFR korrelierten. Wenn man die eGFR als Parameter für die Nierenfunktion in die multivariaten Analysen bei Schulze et al. [2009] einschloss, blieb SDMA als unabhängiger Marker für die Mortalität erhalten. Dies spricht dafür, dass es unter diesen Gesichtspunkten nicht sinnvoll erscheint SDMA allein als einen bloßen Parameter für die Nierenfunktion zu bewerten.

Unerwartet an diesen Ergebnissen ist, dass sich zwischen den gemessenen ADMA-Plasmaspiegeln und den gewählten primären Endpunkten für diese Studie kein Zusammenhang herstellen lassen konnte. Dieses überrascht vor allem unter dem Gesichtspunkt, dass ADMA bisher eine deutlich größere Bedeutung als Risikomarker besitzt, als es für SDMA bis zu diesem Zeitpunkt gesehen werden konnte [Böger et al. 2009].

Aufgrund des doch recht kleinen Patientenkollektives ist die damit verbundene Aussagekraft sicherlich vorsichtig zu betrachten. Aber die Ergebnisse dieser Studie werden durch die vorangegangene "Leeds-Studie", die in den statistischen Berechnungen zwar SDMA jedoch nicht ADMA als einen prädiktiven Marker der Gesamtsterblichkeit nach akutem ischämischen Insult im Langzeit Follow-up erbrachte, gestützt. Dieses wiederum wird auch durch eine Querschnittstudie von Patienten, die eine akute zerebrovaskuläre Erkrankung erlitten hatten, gestützt. Dort konnte gezeigt werden, dass nur ein geringer Zusammenhang zwischen ADMA und dem Ereignis eines akuten Ischämischen Insultes besteht, wohingegen ein deutlich signifikanterer Zusammenhang zwischen SDMA und Auftreten eines Insultes mit einer kardioembolischen Ursache bestand [Wanby et al. 2006]. Hierbei muss auch darauf hingewiesen werden, dass es unterschiedliche Schwerpunkte für ADMA und SDMA als Risikomarker zu geben scheint. Während bei Patienten nach Myokardinfarkten ADMA den besseren prädiktiven Marker darstellt, scheint bei Schlaganfällen SDMA der bessere Marker zu sein. Die Studienlage zeigt hierbei, dass Schlaganfallpatienten in der Regel einer älteren Bevölkerungsschicht angehören als dies bei Patienten, die einen akuten Myokardinfarkt erleiden, der Fall ist. Mit steigendem Alter nimmt aber auch die Niereninsuffizienz zu, so dass man konstatieren kann, dass SDMA dadurch bei Patienten, die einen Schlaganfall erlitten haben, eine größere Bedeutung einnimmt. Dies bestätigt auch eine aktuelle Studie die zeigte, dass es einen Zusammenhang zwischen Niereninsuffizienz und dem Auftreten zerebraler Mikroinsulte gibt und in der SDMA einen unabhängigen Risikomarker darstellt [Cho et al. 2009]. Hierfür könnte SDMA einen Erklärungsansatz bieten. Zudem unterscheiden sich auch die Risikofaktoren von Myokardinfarkt und Schlaganfall voneinander. Während Rauchen und ein erhöhter Cholesterinspiegel wichtige Risikofaktoren bei Myokardinfarkten darstellen, spielen sie in der Risikobewertung für das Schlaganfallrisiko

nur eine untergeordnete Rolle. Dafür besitzen VHF und arterieller Hypertonus für das Erleiden eines Schlaganfalles eine viel höhere Bedeutung als es in der Risikoanamnese für den Myokardinfarkt der Fall ist [Dennis et al. 1993; Hu et al. 2005; Menotti et al. 1998]. Der Zusammenhang zwischen ADMA und SDMA mag hierbei unterschiedlich sein, er ist allerdings bisher noch nicht ausreichend untersucht worden. In der Leeds-Studie ließ sich ein Zusammenhang zwischen SDMA und VHF feststellen. In anderen Untersuchungen zeigte sich ein Zusammenhang zwischen ADMA und dem Cholesterinspiegel [Böger et al. 1998; Mass et al. 2007].

Es gibt verschiedene Erklärungsmodelle das Zusammenwirken von ADMA und SDMA zu beschreiben. So können beide nachgewiesenermaßen den NO-Stoffwechsel beeinflussen. SDMA reduziert dabei über einen indirekten Mechanismus die Bildung von NO, indem es mit L-Arginin beim Transport in die Zelle durch das Transportmolekül hCAT-2B interagiert [Closs et al. 1997]; Wobei hier einschränkend erwähnt werden muss, dass dieser Mechanismus bisher nur in vitro, mit sehr hohen (mmol) SDMA-Konzentrationen, wie sie bisher nicht im Plasma messbar waren, nachweisbar gewesen ist. ADMA hingegen vermag, wie schon beschrieben, auf direktem Weg die NOS zu hemmen und so zu einer endothelialen Dysfunktion beizutragen [Tran et al. 2003]. Dieser direkte Einfluss auf die NO-Syntheserate von SDMA konnte hingegen bisher nicht nachgewiesen werden. Schepers et al. konnten zeigen, dass SDMA Liganden-abhängige Calciumkanäle von Monozyten dahingehend verändert werden, dass es durch einen vermehrten Einstrom von Calciumionen in den Extrazellularraum zu einer Anhäufung reaktiver Sauerstoffmoleküle kommt, wohingegen sich diese Reaktionsabläufe nicht bei ADMA nachweisen ließen. Vielmehr zeigte sich hier eine Überexpression endothelialer Adhäsionsmoleküle [Schepers et al. 2009].

Bei der Betrachtung der Ergebnisse sind folgende Limitationen zu beachten:

Nach dem Studiendesign war es vorgesehen, die Patientenkollektive zweier Kliniken der Akutbehandlung von ischämischen Insulten in die Betrachtung der Ergebnisse einzubeziehen. Aufgrund logistischer Schwierigkeiten war es schlussendlich nicht möglich, Patienten aus dem Marienkrankenhaus in die Betrachtungen dieser Arbeit einfließen zu lassen. Dies führte dazu, dass zum Einen das Patientenkollektiv von Erkrankten einer SAE, welches im Marienkrankenhaus aufgrund einer Spezialisierung auf diese Patienten überrepräsentiert ist, nun in der Gesamtbetrachtung kaum noch eine Rolle spielen konnte, da in der AK Harburg ein zu geringer Anteil dieses Subtypes in die Studie eingeschlossen werden konnte. Zum Anderen hat sich der Umfang der Studie hinsichtlich der eingeschlossenen Patienten dadurch natürlich nahezu um die Hälfte reduziert. Dieses lässt an dieser Stelle gleich einen weiteren Aspekt anschließen. Die

Anzahl der in dieser Studie eingeschlossenen Patienten von 137 ist natürlich als verhältnismäßig klein zu werten, insbesondere im direkten Vergleich zur Leeds-Studie. Als Anschlussuntersuchung an selbige mit dem Schwerpunkt des Follow-ups auf die ersten 30 Tage, sind die Ergebnisse dieser Untersuchung sicherlich nur als eine erste Richtungsbestimmung zu bewerten und bedürfen im Folgenden einer weiteren Betrachtung.

Aufgrund der Größe des Patientenkollektives dieser Untersuchung war es nicht möglich detaillierte multivariate Analysen und spezifische Subgruppen-Untersuchungen durchzuführen.

Ein weiterer, sicherlich kritisch anzumerkender Aspekt, betrifft den Zeitpunkt der Blutentnahme zur Bestimmung der verwendeten Laborparameter. Zum Einen bestand naturgemäß eine nicht unerhebliche zeitliche Varianz zwischen dem Auftreten der ersten Symptome und der letztendlichen Aufnahme in die Klinik. Zum Anderen war es logistisch nicht möglich, eine Bestimmung aller benötigten Laborparameter mit der ersten Blutentnahme in der Zentralen Notaufnahme zu gewährleisten, so dass als Kompromisslösung die erste morgendliche Blutentnahme auf der SAS für die benötigten Parameter festgelegt wurde. Diese doch nicht unerhebliche zeitliche Varianz könnte über das gesamte Patientenkollektiv gesehen doch zu geringen Abweichungen geführt haben.

Zudem gilt es zu berücksichtigen, dass für die Bestimmung der Nierenfunktion der Patienten mit auf dem Serum-Kreatinin basierenden Formeln (im Konkreten der Modifikation of Diet in Renal Disease (MDRD)) selbige berechnet worden ist. Auch wenn diese Berechnung der eGFR eine anerkannte und häufig genutzte Bestimmungsform darstellt, wäre ergänzend eine Bestimmung des 24h- Sammelurins oder der Albuminkonzentration sicherlich wünschenswert gewesen. Dies ließ sich aber nicht in die strukturellen Gegebenheiten der routinemäßigen klinischen Abläufe integrieren.

8. Zusammenfassung

Bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen, chronischer Niereninsuffizienz und auch bei Patienten, die einen ischämischen Insult erlitten hatten, konnten erhöhte Konzentrationen des endogenen NO-Synthase-Inhibitors ADMA nachgewiesen werden. Diese korrelierten mit einem erhöhten Risiko, ein solches Ereignis zu erleiden. Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, ob bei Patienten, die aufgrund eines ischämischen Schlaganfalles auf der SAS aufgenommen worden waren, die ADMA-Plasmaspiegel in einem Zusammenhang mit der Komplikationsrate im Verlauf stehen.

Dafür wurden bei 137 Patienten die ADMA-, SDMA- und L-Arginin-Plasmaspiegel bestimmt und über einen Zeitraum von 30 Tagen nach Erstereignis alle Komplikationen für einen im Vorwege definierten, primären kombinierten Endpunkt aufgezeichnet (Todesfall jedweder Ursache, jeglicher Art von Re-Insult, Myokardinfarkt oder akutes Koronarsyndrom, dekompensierte Herzinsuffizienz oder schwere Herzrhythmusstörungen).

In den Untersuchungen und Analysen zeigte sich für die Arbeitshypothese unerwartet, dass sich kein signifikanter Zusammenhang für die Komplikationsrate und dem ADMA-Plasmaspiegel nachweisen ließ.

Vielmehr zeigte sich, dass die Plasmaspiegel von SDMA signifikant mit der Komplikationsrate korrelierten. Bei einer Unterteilung des Patientenkollektives in Tertile nach ihrer jeweiligen SDMA-Konzentration niedrig $< 0,400 \mu\text{mol/l}$, mittel $0,400 - 0,570 \mu\text{mol/l}$ und hoch $> 0,570 \mu\text{mol/l}$ imponierte, dass der Anteil an Patienten, die ein Ereignis nach primärem oder sekundärem kombiniertem Endpunkt hatten, in der unteren Tertile nur 6,4% lag, während der Wert in der mittleren Tertile schon 12,5% betrug. In der oberen Tertile waren es sogar 30,4% der Patienten, die ein Ereignis hatten. Somit scheint SDMA bei Schlaganfallpatienten als ein Marker für Komplikationen in der Kurzzeitphase nach akutem Ereignis im Gegensatz zu ADMA bei Patienten mit einem Kardiovaskulären Risikoprofil eine größere Bedeutung zu besitzen.

Die weitere Verifizierung dieser Aussage bei der doch kleinen Fallzahl in dieser Studie und ob man anhand dieser Erkenntnisse das neurologische Outcome der Patienten nach einem ischämischen Insult verbessern kann, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

9. Abkürzungsverzeichnis

ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
ASS	Acetylsalicylsäure
BI	Barthel Index
BMI	Body Mass Index
Ca ²⁺	Calcium
cCT	cranielle Computertomographie
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
cNOS	constitutive Stickstoffmonoxidsynthase
CRP	C-reaktives Protein
DDAH	Dimethylaminohydrolase
EDRF	Endothelium-derived relaxing factor
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eGFR	estimated Glomerular Filtration Rate
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase
HbA _{1c}	Glykohämoglobin
HDL	High density lipoprotein
ICD	International Statistical Classification of Diseases
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase
INR	International Normalized ratio
KHK	Koronare Herzkrankheit
LACI	LACunar Infarcts
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry
LDL	Low density lipoprotein
L-NAME	N ^G -nitro-L-arginin methyl ester
L-NMMA	N ^G -monomethyl-L-arginin acetat
L-NNA	N ^G -nitro-L-arginin
MDRD-Formel	Modifikation of Diet in Renal Disease
mNIHSS	modified National Institute of Health Stroke Scale
mRS	modified Rankin Scale
MRT	Magnetresonanztomographie
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NIHSS	National Institute of Health Stroke Scale
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxidsynthase
NO	Stickstoffmonoxid

NOR-NOHA	N(omega)-hydroxy-nor-l-arginine
NOS	Stickstoffmonoxidsynthase
NSTEMI	Non ST-segmented Elevation Myocardial Infarction
NYHA	New York Heart Association
O ²⁻	Sauerstoffsuperoxid
ONOO-	Peroxitrit
PACI	Partial Anterior Circulation Infarct
pAVK	periphere Arterielle Verschlusskrankheit
PGI ₂	Prostaglandin I ₂
POCI	POosterior Circulation Infarct
PTT	Partial Tromboplastin Time
SAE	subcortikalen arteriosklerotischen Enzephalopathie
SAS	Schlaganfallstation
SD	Standard Deviation
SDMA	symmetrisches Dimethylarginin
SPSS	Statistical Product and Service Solution
SSS	Scandinavian Stroke Scale
STEMI	ST-segmented Elevation Myocardial Infarction
TACI	Total Anterior Circulation Infarct
TIA	Transitorisch ischämische Attacke
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
TOAST	<i>Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment</i>
UKE	Universitätsklinikum Eppendorf
VHF	Vorhofflimmern
WHO	World Health Organization

10. Literaturverzeichnis

- Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Aug 1;23(8):1455-9
- Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke: definitions for use in a multicenter clinical trial: TOAST: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke.* 1993;24:35– 41
- Amarenco P, Tonkin AM. Statins for stroke prevention: disappointment and hope. *Circulation.* 2004;109(suppl 1):III-44 –III-49
- Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Burn J, Warlow C. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *Lancet* 1991; 337: 1521-26
- Bamford J, Sandercock P, Dennis M, Warlow C, Jones L, McPherson K, Vessey M, Fowler G, Molyneux A, Hughes T, Burn J, Wade D: A prospective study of acute cerebrovascular disease in the community: The Oxfordshire Community Stroke Project—1981-1986. 1. Methodology, demography and incident cases of first-ever stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51:1373-1380
- Bode-Böger SM, Scalera F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Breithardt G, Fobker M, Reinecke H. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:1128-1134
- Böger R.H., Bode-Böger S.M., Mügge A., et al. Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis* 1995; 117(2):273-84

- Böger RH, Bode-Böger SM, Fröhlich JC The L-arginine – nitric oxid pathway: Role in atherosclerosis and therapeutic implications *Atherosclerosis* 1996; 127:1-11
- Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tangphao O, Tsao PS, Chan JR, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine: a novel risk factor for endothelial dysfunction. Its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842 – 1847
- Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98:1842-1847
- Böger RH, Maas R, Schulze F, Schwedhelm E. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a prospective marker of cardiovascular disease and mortality-An update on patient populations with a wide range of cardiovascular risk. *Pharmacological Research* 2009; 60:481
- Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, Tsikas D, Bode-Böger SM: LDL Cholesterol upregulates synthesis of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in human endothelial cells. Involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ. Res.* 2000; 87: 99 – 105
- Böger RH, Zoccali C. ADMA: A novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patient with end-stage renal disease. *Atherosclerosis Suppl.* 2003; 4: 23-28
- Bonita R, Beaglehole R. Modification of Rankin Scale: Recovery of motor function after stroke. *Stroke* 1988;19(12):1497-1500
- Brouns R, Marescau B, Possemiers I, Sheorajpanday R, De Deyn PP. Dimethylarginine levels in cerebrospinal fluid of hyperacute ischemic stroke patients are associated with stroke severity *Neurochem Res.* 2009 Sep;34(9):1642-9
- Brott T, Adams HP, Olinger CP, et al. Measurements of acute cerebral infarction: A clinical examination scale. *Stroke* 1989;20:864-870

- Carter AM, Catto AJ, Mansfield MW, Bamford JM, Grant PJ. Predictive variables for mortality after acute ischemic stroke. *Stroke*. 2007; 38: 1873-1880
- Cho AH, Lee SB, Han SJ, Shon YM, Yang DW, Kim BS. Impaired kidney function and cerebral microbleeds in patients with acute ischemic stroke. *Neurology* 2009; 73:1645-1648
- Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Forstermann U. Interference of L-arginin analogues with L-arginine transport mediated by the y+ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide* 1997; 1:65-73
- Dennis MS, Burn JP, Sandercock PA, Bamford JM, Wade DT, Warlow CP. Long-term survival after first-ever stroke: the Oxfordshire Community Stroke Project. *Stroke* 1993; 24:796-800
- Dudzinski DM, Igarashi J, Greif D, Michel T: The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006;46:235-76
- Faraci FM, Brian JE: Nitric oxide and the cerebral circulation. *Stroke* 1994; 25:692,
- 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. 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*. 2000; 20: 2039-2044
- Furchtgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in relaxation of smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288:373 – 376
- Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis *Annu. Rev. Immunol*. 2009. 27:165–97
- Goonasekera CD, Rees DD, Woolard P, Friend A, Shah V, Dillon MJ. Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens*. 1997 Aug;15(8):901-9

- Govan L, Langhorne P, Weir CJ. Categorizing Stroke Prognosis Using Different Stroke Scales *Stroke*. 2009;40(10):3396-9
- Hogg N., Kalyanaraman B., Joseph J., Struck A., Parthasarathy S. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis. *FEBS Lett.* (1993) 334:170–174
- Hu G, Sarti C, Jousilahti P, Peltonen M, Qiao Q, Antikainen R, Tuomilehto J. The Impact of History of Hypertension and Type 2 Diabetes at Baseline on the Incidence of Stroke and Stroke Mortality. *Stroke* 2005; 36:2538-2543
- Iannuzzi A, Wilcosky T, Mercuri M, Rubba P, Bryan FA, Bond MG. Ultrasonographic correlates of carotid atherosclerosis in transient ischemic attack and stroke. *Stroke*. 1995 Apr;26(4):614-9
- Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP.: Novel mechanism for endothelial dysfunction. Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 1999; 99: 3092–95
- Jamrozik K, Broadhurst RJ, Anderson CS, Stewart-Wynne EG. The role of lifestyle factors in the etiology of stroke: a population-based casecontrol study in Perth, Western Australia. *Stroke*. 1994;25:51–59
- Jiang Y, Sheikh K, Claudia Bullock C: Is There a Sex or Race Difference in Stroke Mortality? *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 2006; 15:179-186
- Kapadia MR, Eng JW, Jiang Q, Stoyanovsky DA, Kibbe MR. Nitric oxide regulates the 26S proteasome in vascular smooth muscle cells. 2009 Jun;20(4):279-88
- Kiechl S, Lee T, Santer P, Thompson G, Tsimikas S, Egger G, Holt DW, Willeit J, Xu Q, Mayr M. Asymmetric and symmetric dimethylarginines are of similar predictive value for cardiovascular risk in the general population. *Atherosclerosis* 2009; 205:261

- Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Boeger SM, Cooke JP, Fliser D. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function--a metaanalysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006; 21:2446-2451
- Kim SY, Guevara JP, Kim KM, Choi HK, Heitjan DF, Albert DA. Hyperuricemia and risk of stroke: A systematic review and meta-analysis *Arthritis Rheum.* 2009 15;61(7):885-92
- Knowles R.G., Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem. J.* 1994; 298:249-258
- Kool MJ, Hoeks AP, Struijker Boudier HA, Reneman RS, Van Bortel LM. Short- and long-term effects of smoking on arterial wall properties in habitual smokers. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22:1881–1886
- Krempf TK, Maas R, Sydow K, Meinertz T, Böger RH, Kähler J: Elevation of asymmetric dimethylarginine in patients with unstable angina and recurrent cardiovascular events. *Eur Heart J*, 2005; 26: 1846–51
- Kurth T, Gaziano JM, Berger K, Kase CS, Rexrode KM, Cook NR, Buring JE, Manson JE. Body mass index and the risk of stroke in men. *Arch Intern Med.* 2002;162:2557–2562
- Landim MBP, Casella Filho A, Chagas ACP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. *Clinics.* 2009;64(5):471-8
- Lawes CMM, Bennett DA, Feigin VL, Rodgers A. Blood pressure and stroke: an overview of published reviews. *Stroke.* 2004;35:776 –785
- Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1993; 43:542-548
- Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, Vallance P: Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distribution and homology with microbial arginine deaminases. *Biochem J*, 1999; 343: 209–14

- Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, Vallance P. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J* 1999; 343 Pt 1:209-214
- Lundman P, Eriksson MJ, Stühlinger M, Cooke JP, Hamsten A, Tornvall P. Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 38: 111-116
- Lyden P, Lu M, Levine SR, Brott TG, Broderick J, NINDS rtPA Stroke Study Group. A Modified National Institutes of Health Stroke Scale for Use in Stroke Clinical Trials . Preliminary Reliability and Validity. *Stroke* 2001; 32: 1310-17
- Maas R, Quitzau K, Schwedhelm E, Spieker L, Rafflenbeul W, Steenpass A, Luscher TF, Boger RH. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and coronary endothelial function in patients with coronary artery disease and mild hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2007; 191:211-219
- MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell RJ, Hodson H, Whitley GS, Vallance P. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br. J. Pharmacol.* 1996; 119: 1533 – 1540
- Mamatha SN, Nagaraja D, Philip M, Christopher R. Asymmetric dimethylarginine as a risk marker for early-onset ischemic stroke in Indian population. *Clin Chim Acta.* 2011; 412(1-2):139-42
- Mayberg MR, Wilson SE, Yatsu F, Weiss DG, Messina L, Hershey LA, Colling C, Eskridge J, Deykin D, Winn HR. Carotid endarterectomy and prevention of cerebral ischemia in symptomatic carotid stenosis: Veterans Affairs Cooperative Studies Program 309 Trialist Group. *JAMA.* 1991;266:3289 –3294
- Megherbi SE, Milan C, Minier D, Couvreur G, Osseby GV, Tilling K, Di Carlo A, Inzitari D, Wolfe CD, Moreau T, Giroud M, for the European BIOMED Study of Stroke Care Group. Association between diabetes and stroke subtype on survival

and functional outcome 3 months after stroke: data from the European BIOMED Stroke Project. *Stroke*. 2003;34:688–694

- Menotti A, Jacobs DR, Jr., Blackburn H, Kromhout D, Nissinen A, Nedeljkovic S, Buzina R, Mohacek I, Seccareccia F, Giampaoli S, Dontas A, Aravanis C, Toshima H. Twenty-Five-Year Prediction of Stroke Deaths in the Seven Countries Study : The Role of Blood Pressure and Its Changes. *Stroke* 1996; 27:381-387
- Mittermayer F, Krzyzanowska K, Exner M, Mlekusch W, Amighi J, Sabeti S, Minar E, Müller M, Wolzt M, Schillinger M: Asymmetric dimethylarginine predicts major adverse cardiovascular events in patients with advanced peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006; 26: 2536–40
- Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, Phelan J, Tilley S, Santa Maria J, Vallance P, McDonald N: Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Nat Struct Biol*. 2001 Aug;8(8):679-83
- Nanayakkara PWB, Teerlink T, Stehouwer CDA, Allajar D, Spijkerman A, Schalkwijk C, ter Wee PM, van Guldener C. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentration is independently associated with carotid intima-media thickness and plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) concentration in patients with mild-to-moderate renal failure. *Kidney Int* 2005; 68:2230
- Nishida K, Harrison DG, Navas JP, Fisher AA, Dockery SP, Uematsu M, Nerem RM, Alexander RW, Murphy TJ. Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase. *J Clin Invest*. 1992 Nov;90(5):2092-6
- Nishiyama Y, Ueda M, Katsura K, Otsuka T, Abe A, Nagayama H, Katayama Y. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a possible risk marker for ischemic stroke. *J Neurol Sci*. 2010 Mar 15;290(1-2):12-5
- O'Donnell CJ, Larson MG, Feng D, Sutherland PA, Lindpaintner K, Myers RH, D'Agostino RA, Levy D, Tofler GH, for the Framingham Heart Study. Genetic and

environmental contributions to platelet aggregation: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2001;103:3051–3056

- Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Dimethylarginine:pyruvate aminotransferase in rats. Purification, properties, and identity with alanine:glyoxylate aminotransferase 2. *J Biol Chem* 1990; 265:20938-20945
- Paik WK, Kim S. Protein methylase I. Purification and properties of the enzyme. *J Biol Chem*. 1968 May 10;243(9):2108-14
- Petty GW, Brown RD Jr, Whisnant JP, Sicks JD, O'Fallon WM, Wiebers DO. Survival and recurrence after first cerebral infarction: a population-based study in Rochester, Minnesota, 1975 through 1989. *Neurology*. 1998;50:208 –216
- Petty GW, Brown RD, Whisnant JP, Sicks JD, O'Fallon WM and Wiebers DO. Ischemic Stroke Subtypes : A Population-Based Study of Incidence and Risk Factors *Stroke* 1999;30;2513-2516
- Pikula A, Böger RH, Beiser AS, Maas R, DeCarli C, Schwedhelm E, Himali JJ, Schulze F, Au R, Kelly-Hayes M, Kase CS, Vasani RS, Wolf PA, Seshadri S. Association of plasma ADMA levels with MRI markers of vascular brain injury: Framingham offspring study. *Stroke*. 2009 Sep;40(9):2959-64
- Pullamsetti S, Kiss L, Ghofrani HA, Voswinckel R, Haredza P, Klepetko W, Aigner C, Fink L, Muiyal JP, Weissmann N, Grimminger F, Seeger W, Schermuly RT. Increased levels and reduced catabolism of asymmetric and symmetric dimethylarginines in pulmonary hypertension. *Faseb J* 2005; 19:1175-1177
- Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. *Scott Med J* 1957;2:200-15
- Rawal N, Rajpurohit R, Lischwe MA, Williams KR, Paik WK, Kim S. Structural specificity of substrate for S-adenosylmethionine:protein arginine N-methyltransferases. *Biochim. Biophys. Acta* 1995; 1248: 11 – 18

- Rawal N, Rajpurohit R, Paik WK, Kim S: Purification and characterization of S-adenosylmethionine-protein-arginine N-methyltransferase from rat liver. *Biochem J*, 1994; 300: 483–89
- Rees DD, Palmer RM, Schulz R, Hodson HF, Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol*. 1990 Nov;101(3):746-52
- Rodgers A, MacMahon S, Gamble G, Slattery J, Sandercock P, Warlow C. Blood pressure and risk of stroke in patients with cerebrovascular disease: the United Kingdom Transient Ischaemic Attack Collaborative Group. *BMJ*. 1996;313:147
- Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frölich JC, Vallance P, Nicolaides KH. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 2003; 361: 1511-1517
- Schepers E, Glorieux G, Dhondt A, Leybaert L, Vanholder R. Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via storeoperated calcium influx in monocytes. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2009; 24:1429-1435
- Schulze F, Carter AM, Schwedhelm E, Ajjan R, Maas R, von Holten R-A, Atzler D, Grant PJ, Böger RH. Symmetric dimethylarginine predicts all-cause mortality following ischemic stroke. *Atherosclerosis* 2009; 208:518-523
- Schwedhelm E, Maas R, Tan-Andresen J, Schulze F, Riederer U, Boger RH. High-throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 851:211-219
- Schwedhelm E, Tan-Andresen J, Maas R, Riederer U, Schulze F, Boger RH. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the analysis of asymmetric dimethylarginine in human plasma. *Clin Chem* 2005; 51:1268-1271
- Schwedhelm E, Tan-Andresen J, Maas R, Riederer U, Schulze F, Böger RH. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the analysis of asymmetric dimethylarginine in human plasma. *Clin Chem*. 2005;51: 1268-1271

- Shinton R, Beevers G. Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *BMJ*. 1989;298:789 –794
- Sibal L, Agarwal SC, Schwedhelm E, Lüneburg N, Böger RH, Home PD. A study of endothelial function and circulating asymmetric dimethylarginine levels in people with Type 1 diabetes without macrovascular disease or microalbuminuria. *Cardiovasc Diabetol*. 2009 Jun 1;8:27
- Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine Impairs the Nitric Oxide Synthase Pathway: Role of Asymmetric Dimethylarginin *Circulation* 2001;104;2569-2575
- Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Böger RH, Bode-Böger SM, Kruszelnicka-Kwiatkowska O, Kokot F, Dubiel J, Frölich JC. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in men with essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol*. 1999; 33: 652 – 658
- Sydow K, Münzel T. ADMA and oxidative stress. *Atherosclerosis Supplements* 2003; 4:41-51
- Tanne D, Koren-Morag N, Graff E, Goldbourt U. Blood Lipids and First-Ever Ischemic Stroke/Transient Ischemic Attack in the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Registry: High Triglycerides Constitute an Independent Risk Factor, *Circulation* 2001;104;2892-2897
- Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atheroscler Suppl* 2003; 4:33-40
- Uddin MJ, Alam B, Jabbar MA, Mohammad QD, Ahmed S. Association of lipid profile with ischemic stroke. *Mymensingh Med J*. 2009 Jul;18(2):131-5
- Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, Laaksonen R. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*. 2001 Dec 22-29;358(9299):2127-8

- Vallance P, Collier J, Moncada S: Effects of endothelium- derived nitric oxide on peripheral arterial tone in man *Lancet* 1989;997-1000
- Vallance P, Leone A, Calver A , Collier J, Moncada S: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*, 1992; 339: 572–75
- Wanby P, Teerlink T, Brudin L, Brattström L, Nilsson I, Palmqvist P, Carlsson M. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a risk marker for stroke and TIA in a Swedish population. *Atherosclerosis*. 2006; 185: 271-277
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med*. 1998;338:1042–1050
- Wolf A., Zalpour C., Theilmeier G. Dietary L-arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterolemic humans. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1997; 29:479–485
- Wolf PA, Abbot RD, Kannel WB. Atrial fibrillation: a major contributor to stroke in the elderly: the Framingham study. *Arch Intern Med*. 1987;147:1561–1564
- Wolf PA, D'Agostino RB, Belanger AJ, Kannel WB. Probability of stroke: a risk profile from the Framingham study. *Stroke*. 1991;22: 312–318
- Wolf PA, D'Agostino RB, Kannel WB, Bonita R, Belanger AJ. Cigarette smoking as a risk factor for stroke: the Framingham study. *JAMA*. 1988;259:1025–1029
- Wolf PA, D'Agostino RB, Belanger AJ, Kannel WB. Probability of stroke: a risk profile from the Framingham Study. *Stroke*1991; 22:312-318
- Xiao S, Wagner L, Schmidt RJ, Baylis C: Circulating endothelial nitric oxide synthase inhibitory factor in some patients with chronic renal disease. *Kidney Int*, 2001; 59: 1466–72

- Yan G, You B, Chen SP, Liao JK, Sun J. Tumor necrosis factor- α downregulates endothelial nitric oxide synthase mRNA stability via translation elongation factor 1- α 1. *Circ Res*. 2008 Sep 12;103(6):591-7
- Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis*. 2001; 158: 425-430
- Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich JC, Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase predicts mortality in end-stage renal disease (ESRD). *Lancet* 2001; 358: 2113-2117

11. Anhang

11.1. Erhebungsbogen

Erhebungsbogen "ADMA-Studie" UKE - KP 2007 / 001

Patientendaten Name: _____ Geb. Dat.: _____ Studien-Nr.: AKH <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> MKH <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Aufnahme datum: _____ Onset of Stroke: _____ Zeitpunkt der Blutentnahme: _____
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------

Anamnese:

<input type="checkbox"/> Adipositas	<input type="checkbox"/> Herzinsuffizienz/ KHK NYHA <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Vorhofflimmern	<input type="checkbox"/> Art. Hypertonus RR <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mm Hg
<input type="checkbox"/> früh. Myokardinfarkt	<input type="checkbox"/> Diab. Mellitus; insulinpflichtig <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein
<input type="checkbox"/> Hyperlipoproteinämie	<input type="checkbox"/> ACI Stenose <input type="checkbox"/> li. <input type="checkbox"/> re. <input type="checkbox"/> bds.
<input type="checkbox"/> Hyperhomocysteinämie (falls bekannt)	<input type="checkbox"/> Nikotinabusus <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> packyears

Klassifikation und Diagnostik:

TIA

Hirninfrakt:

- Atherothrombotisch
- Kardoembolisch
- Mikroangiopathisch mit diagnostizierter SAE
- Mikroangiopathisch ohne diagnostizierte SAE
- andere gesicherte Ursache: _____
- konkurrierende Ursachen
- unbekannte Äthiologie

erstmalig wiederholt (binnen 28 Tagen) wiederholt (länger als 28 Tage)

diagnostische Maßnahmen: _____

NIH-SS bei Aufnahme: mRS bei Aufnahme:

Therapie:

Lyse i.a. h min Heparin s.c. operative Therapie

Lyse i.v. h min Heparin i.v.

Laborparameter:

S-Kreatinin	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mg/dl	INR	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Harnstoff	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> umol/l	Quick	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> %
Fibrinogen	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mg/dl	CRP	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> g/l
PTT	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> sec.	Triglyzeride	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mg/dl
HK	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> %	Ges. Cholesterin	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mg/dl
Ery	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> x10 ¹² /l	LDL	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mg/dl
Leuko	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> x10 ⁹ /l	HDL	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> mg/dl
Thromo	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> x10 ⁹ /l	Hb A1c	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> %

Vormedikation (bitte sämtliche Dauermedikation des Patienten auflisten) :

Antihypertensiva (Name und Dosierung): _____

Thrombozytenaggregationshemmer (Name und Dosierung): _____

Lipidsenker (Name und Dosierung): _____

Anitidiabetika (Name und Dosierung): _____

Sonstige: _____

11.2. Follow-up Bogen

Follow-up-Bogen "ADMA - Studie" UKE - KP 2007 / 001

Patientendaten

Name: _____

Datum: _____

Geb. Dat.: _____

Telefon: _____

Studien-Nr.: AKH
MKH

modified Rankin Scale:

Schweregrad (Rankin 0)	<input type="checkbox"/>	Schweregrad (Rankin 4)	<input type="checkbox"/>	Dauer des Aufenthaltes:	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Tage
Schweregrad (Rankin 1)	<input type="checkbox"/>	Schweregrad (Rankin 5)	<input type="checkbox"/>			
Schweregrad (Rankin 2)	<input type="checkbox"/>	Schweregrad (Rankin 6)	<input type="checkbox"/>			
Schweregrad (Rankin 3)	<input type="checkbox"/>					

Kardiale Ereignisse:

Ja Nein

Datum: (TT / MM / JJ)

Nichtkardiale Ereignisse:

Re-Insult

Hämorrhagie

Pneumonie

Infektion / Sepsis

Sonstige: _____

Todesfälle:

gesicherte kardiovaskuläre Ursache:

wahrscheinliche kardiovaskuläre Ursache:

andere Ursache:

Sonstiges:

12. Danksagung

Herrn Prof. Prof. Dr. Rainer Böger danke ich für die Möglichkeit, dass ich am Institut Klinische Pharmakologie der Universität Hamburg diese Arbeit anfertigen konnte; ebenso danke ich für die Überlassung des Themas und die beständige und kontinuierliche Betreuung meiner Arbeit.

Herrn PD Dr. Thomas Klöss und im weiteren Verlauf Herrn Prof. Dr. Rudolf Friedrich Töpfer danke ich für Ihre Unterstützung bei der klinischen Umsetzung der Studie und als ständige Ansprechpartner vor Ort bei allen fachlichen und organisatorischen Fragen.

Für die experimentelle Durchführung bin ich insbesondere Frau Mariola Kastner und Frau Anna Steenpaß zu großem Dank verpflichtet, der aber auch allen nicht namentlich genannten Mitgliedern des Instituts für ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft gilt.

Herrn Prof. Dr. Renke Maas und Frau Dr. Nicole Lüneburg gilt mein ausdrücklicher Dank für ihre konstruktive Hilfe – insbesondere bei der Auswertung der Studie – und die fachliche Unterstützung.

Frau Simone Bremer danke ich dafür, dass sie immer als zentraler Ansprech- und Vermittlungspartner bei allen Fragen zur Verfügung stand.

Nicht zuletzt danke ich auch im Besonderen meiner Familie für ihre Unterstützung und ihren Ansporn in auch manchmal zähflüssigen und unproduktiveren Phasen.

13. Lebenslauf

14. Erklärung

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

.....