

# UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Zentrum für Experimentelle Medizin  
Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie

Prof. Dr. med. Rainer H. Böger

## **Wirkung einer oralen Supplementierung mit L-Arginin auf das perioperative Risiko bei elektiven abdominalen oder thorakalen Eingriffen – Bedeutung des präoperativen ADMA-Plasmaspiegels als perioperativer Risikomarker**

### **Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:  
Julia Windolph  
aus Schwerin

Hamburg 2020

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 30.09.2020

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

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

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Constantin Trepte

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Arbeitshypothese und Fragestellung</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung</b>	<b>6</b>
2.1	Perioperatives Management	6
2.1.1	Präoperative Risikoevaluation	6
2.1.2	Perioperatives Risiko	8
2.2	Vaskuläre Integrität	11
2.3	Stickstoffmonoxid	11
2.4	Endotheliale Dysfunktion	12
2.5	NO-Synthaseinhibitoren – ADMA	13
2.6	L – Arginin	18
2.7	L-Citrullin	20
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>22</b>
3.1	Studienprotokoll	22
3.2	Ein- und Ausschlusskriterien	22
3.2.1	Einschlusskriterien	22
3.2.2	Ausschlusskriterien	22
3.3	Studienablauf	23
3.4	Primär kombinierte Endpunkte	25
3.4.1	Diagnosesicherung der primären Endpunkte	25
3.5	Probenaufbereitungen	27
3.6	Messungen der ADMA- Plasmakonzentration	28
3.7	Statistische Analysen	29
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>30</b>
4.1	Patientenkollektiv	30
4.1.1	Baseline-Charakteristika der Patienten	30
4.1.2	Laborchemische Marker	31
4.1.3	Traditionelle präoperative Risiko-Scores	32
4.2	Verläufe der Plasmakonzentrationen	32
4.2.1	ADMA- und L-Arginin-Konzentration bei Einschluss in die Studie	32
4.2.2	L-Arginin	33
4.2.3	ADMA	34
4.2.4	L-Arginin/ADMA-Ratio	34
4.3	Perioperative Komplikationen	35
4.4	ADMA und die L-Arginin/ADMA-Ratio als neue Risikomarker	35

<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>37</b>
5.1	ADMA als kardiovaskulärer Risikomarker .....	37
5.2	Das Patientenkollektiv .....	39
5.3	Verläufe der Plasmakonzentrationen .....	39
5.3.1	L-Arginin .....	39
5.3.2	ADMA .....	40
5.3.3	L-Arginin/ADMA-Ratio .....	42
5.4	Bedeutung der L-Arginin-Supplementierung .....	43
5.4.1	Weitere Endpunkt-Analysen .....	45
5.5	Limitationen.....	46
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>Conclusion</b> .....	<b>48</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>49</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>53</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>71</b>
10.1	Erst-Kontakt-Bogen.....	71
10.1.1	Probandeninformation.....	72
10.1.2	Einverständniserklärung .....	79
10.2	Präoperativer Erhebungsbogen .....	80
10.3	Postoperativer Erhebungsbogen.....	84
<b>11</b>	<b>Materialien</b> .....	<b>88</b>
11.1	Reagenzien.....	88
11.1.1	Lösungen und Puffer für die ADMA-Messung:.....	88
11.2	Verbrauchsmaterialien: .....	89
11.3	Geräte:.....	89
<b>12</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>90</b>
<b>13</b>	<b>Tabellarischer Lebenslauf</b> .....	<b>91</b>
<b>14</b>	<b>Eidesstattliche Versicherung</b> .....	<b>92</b>

## 1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Zur Aufrechterhaltung der vaskulären Homöostase dient Stickstoffmonoxid (NO), ein durch die Endothelzellen sezerniertes Molekül. Endotheliale Dysfunktion ist ein frühes pathophysiologisches Zeichen einer vaskulären Erkrankung und geht mit einem Mangel an endothelial produziertem NO einher. Stickstoffmonoxid ist der wichtigste Mediator, der die endothelialen Funktionen reguliert. Dieser wird aus der Aminosäure L-Arginin durch das Enzym NO-Synthase gebildet. Als endogener, kompetitiver Inhibitor der NO-Synthase reduziert das asymmetrische Dimethylarginin (ADMA) die NO-Produktion und führt so zu einer endothelialen Funktionsstörung und in Konsequenz zu kardiovaskulären Erkrankungen.

Die Bedeutung der ADMA-Plasmakonzentration als kardiovaskulärer Risikofaktor konnte mit diversen Erkrankungen, wie z.B. der arteriellen Hypertonie, der koronaren Herzkrankheit, der Herzinsuffizienz oder dem ischämischen Insult, in Verbindung gebracht werden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die plasmatische ADMA-Konzentration ein signifikanter Prädiktor für das Auftreten periinterventioneller kardiovaskulärer Komplikationen und der Mortalität ist.

Hingegen wurde eine inverse Korrelation zu der Konzentration des endogenen L-Arginins bzw. dem L-Arginin/ADMA-Quotienten herausgestellt. Diese Erkenntnisse korrelieren mit dem molekularen Wirkmechanismus der asymmetrischen Dimethylarginine, welche das kardiovaskuläre Risiko über eine kompetitive Verdrängung des Substrats L-Arginin von der NO-Synthase beeinflussen. Die Supplementierung mit L-Arginin erhöht die Bioverfügbarkeit von NO, sodass NO-vermittelte Stoffwechselwege normalisiert werden.

Eine ergänzende orale Zufuhr der Aminosäure L-Arginin (bzw. eines Kombinationspräparates mit L-Citrullin) sollte dementsprechend von Vorteil sein, wenn die zugrundeliegende endotheliale Funktionsstörung durch L-Arginin-Supplementierung reversibel ist.

Das Ziel der Studie war es zu untersuchen, ob eine präoperative, orale Supplementierung mit L-Arginin bei Patienten, die sich einer elektiven, abdominal- und/oder thorakalchirurgischen Operation unterziehen, mit einer signifikanten Reduktion der perioperativen, kardiovaskulären Komplikationsrate einhergeht.

Weiterhin sollte die Bedeutung der ADMA-Plasmakonzentration als perioperativer Risikomarker evaluiert werden.

## 2 Einleitung

### 2.1 Perioperatives Management

#### 2.1.1 Präoperative Risikoevaluation

Durch die sich stetig verbessernde medizinische Versorgung und die demographische Entwicklung in den letzten Jahrzehnten steigt sowohl das Durchschnittsalter der Bevölkerung an, als auch die Inzidenz von mit im hohen Alter korrelierenden Erkrankungen, wie zum Beispiel atherosklerotischen Gefäßerkrankungen, Arrhythmien und Niereninsuffizienz [Theilmeier et al. 2009]. Pro Jahr werden mehr als 300 Millionen nicht kardiochirurgische Operationen durchgeführt [Weiser et al. 2015]. Dabei rückt die zunehmend komplexe operative Versorgung multimorbider, alternder Patienten in den Fokus, besonders im Hinblick auf die präoperative Risikostratifizierung und das perioperative Management.

Doch wie erfolgt im Allgemeinen die Risikostratifizierung nicht kardiochirurgischer Patienten; laut der Deutschen Gesellschaft für Anästhesie und Intensivmedizin (DGAI) und der European Society of Cardiology (ESC) steht an erster Stelle die ausführliche Anamnestizierung des Patienten sowie die körperliche Untersuchung, besonders in Bezug auf das durch die Operation entstehende Risiko (OP-Dauer, Invasivität etc.) und die körperliche Belastbarkeit [Poldermans et al. 2009; Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin 2010]. Letzteres wird in Form von metabolischen Äquivalenten (MET) objektivierbar, wobei 1 MET dem Sauerstoffverbrauch in absoluter Ruhe entspricht. Umgerechnet ist  $1 \text{ MET} = 1,05 \text{ kcal/h/kg KG} = 4.19 \text{ kJoule/kg/h} = 1.2 \text{ Watt/kg} \approx 3.5 \text{ ml VO}_2/\text{min/kg KG}$ . Moderate körperliche Aktivität, z.B. Treppensteigen von 2 Stockwerken, entspricht 4 MET. Das Risiko einer kardialen Komplikation wird insbesondere bei Patienten mit normaler Bewegungskapazität als gering eingestuft, unabhängig etwaiger Komorbiditäten [Morris et al. 1991]. Ist diese Kapazität jedoch vermindert, das heißt  $<4 \text{ MET}$ , sind Komorbiditäten und die operative Prozedur entscheidend für das kardiovaskuläre Risiko. Ergibt sich bei diesen ersten Untersuchungen kein Hinweis auf potentiell beeinflussende Vorerkrankungen, so sind ohne Berücksichtigung von Alter und Eingriff keine weiteren Untersuchungen indiziert. Es konnte gezeigt werden, dass ungerichtete Screening-Untersuchungen, wie z.B. ein generelles präoperatives Labor oder ein Routineröntgen des Thorax, keinen prädiktiven Wert für das Auftreten perioperativer Komplikationen haben [García-Miguel et al. 2003]. Stellt sich jedoch der Verdacht auf eine kardiovaskuläre oder pulmonale Grunderkrankung können weiterführende Diagnostiken,

wie zum Beispiel laborchemische Untersuchungen, 12-Kanal-EKG, Lungenfunktionstest oder auch Echokardiographie veranlasst werden. Die Deutsche Gesellschaft für Anästhesie und Intensivmedizin (DGAI), in Kooperationen mit weiteren Fachgesellschaften, hat aus diesem Grund Algorithmen für die „Präoperative Evaluation erwachsener Patienten vor elektiven, nicht kardiochirurgischen Eingriffen“ entwickelt [Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin 2010].

Für eine objektivere Risikostratifizierung wurden in den vergangenen Dekaden dutzende Scores entwickelt, welche helfen sollen, das perioperative Risiko einzuschätzen und mittels gezielter, präventiver Maßnahmen, wie zum Beispiel geeigneter Instrumentierung des Patienten während der Operation, postoperative Planung von Intensivbetten etc. Komplikationen vorzubeugen. Ein allgemeiner Ansatz der perioperativen Risikostratifizierung ist durch die Komplexität vieler Variablen bisher nur ungenügend realisiert worden. Mit Hilfe der Klassifikation der American Society of Anesthesiologists (ASA), welche ausschließlich den physischen Status eines Patienten berücksichtigt, ist man dem Versuch jedoch wohl am nächsten gekommen. Das im Mai 1941 von Meyer Saklad initial entworfene und im Verlauf durch Dripps et al. adaptierte Schema unterscheidet die Patienten anhand systemischer Erkrankungen [Saklad 1941; Dripps et al. 1961].

ASA I:	normaler, gesunder Patient
ASA II:	leichte Allgemeinerkrankung ohne Leistungseinschränkung
ASA III:	schwere Allgemeinerkrankung mit Leistungseinschränkung
ASA IV:	schwere Allgemeinerkrankung mit permanenter Lebensbedrohung
ASA V:	moribunder Patient, der ohne Operation nicht überleben wird
ASA VI:	hirntoter Patient

Der ASA-Score zählt aufgrund seiner leichten Anwendbarkeit, den physischen Zustand sowie die einhergehende perioperative Morbidität und Mortalität des Patienten zu beurteilen, wohl zu den bedeutsamsten präoperativen Risikoevaluationssystemen. Dennoch ist die Klassifikation durch ihre Subjektivität eher ungeeignet eine Prognose zum Outcome des Patienten oder die Komplikationsrate eines Krankenhauses im Rahmen der Qualitätssicherung zu beurteilen. So wurden z.B. in einer Studie nur 6 von 10 Patienten von 255 Anästhesisten gleich eingestuft [Owens et al. 1978].

Weitere Risikoevaluationssysteme beziehen sich insbesondere auf kardiovaskuläre Risikofaktoren als Ursache für das Auftreten etwaiger Komplikationen bei großen nicht-kardiochirurgischen Eingriffen [L'Italien et al. 1996; Mangano et al. 1995]. Als einer der

am weitesten verbreiteten Risiko-Scores zur präoperativen Evaluierung bietet sich der Revised Cardiac Risk Index nach Lee an, welcher jeweils einen Punkt für Hochrisikoperationen (suprainguinal vaskulärer, intraperitonealer oder intrathorakaler Eingriff), Herzinsuffizienzanamnese, koronare Herzkrankheit oder zerebrovaskuläre Erkrankung in der Vorgeschichte sowie auch insulinpflichtiger Diabetes mellitus und Serumkreatinin von  $>2$  mg/dl vergibt. Patienten mit mindestens 3 der o.g. Faktoren haben erwiesenermaßen ein erhöhtes Risiko kardiovaskuläre Komplikationen innerhalb der nächsten 6 Monate zu erleiden, selbst wenn diese Patientengruppe keine perioperativen kardialen Komplikationen zeigte [Lopez-Jimenez et al. 1997; Grayburn et al. 2003]. Ackland et al. konnten später zeigen, dass bei großen orthopädischen Operationen und einem RCRI von mindestens 3 eine 1,7-fache Steigerung nicht-kardialer Komplikationen und somit ein verlängerter Krankenhausaufenthalt assoziiert war [Ackland et al. 2010]. Der RCRI jedoch ist von unsicherer Verallgemeinerbarkeit hinsichtlich jener Patientengruppen mit einem niedrigen perioperativen Risiko, als auch Hochrisikopatientengruppen, welche z.B. Notfalloperationen durchlaufen. Das heißt, diese Risikostratifizierung ist nur hilfreich bei Patienten mit moderatem Komplikationsrisiko und weit weniger für Patientengruppen, die ein sehr hohes bzw. niedriges perioperatives Risiko aufweisen [Lee et al. 1999]. Weitere Limitationen dieses Scoring-Systems bestehen darin, dass insbesondere bei vaskulären Eingriffen der RCRI die kardiale Komplikationsrate nicht genügend erfasst. Daraus folgend hat die Arbeitsgruppe um Bertges et al. den RCRI um die Punkte: Alter, Rauchen, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) und Betablockertherapie erweitert. Der nun adaptierte Vascular Study Group-Cardiac Risk Index (VSG-CRI) scheint besser angebracht für die Risikostratifizierung vaskulär bedingter Operationen zu sein [Bertges et al. 2010]. Allerdings lässt sich die Praktikabilität dieser Scores im klinischen Alltag aufgrund ihrer Komplexität in Frage stellen.

Neben den klinischen Risikofaktoren gewinnen auch zunehmend Surrogatparameter (kardiales Troponin, NT-proBNP, CRP) für die präoperative Risikoeinschätzung an Bedeutung [Bakker et al. 2011; Lopez-Jimenez et al. 1997].

### **2.1.2 Perioperatives Risiko**

Ein großer kardiochirurgischer Eingriff geht mit der Inzidenz einer kardial verursachten Morbidität von 0,5-30% einher, in Abhängigkeit der Größe des Eingriffs sowie der einhergehenden Komorbiditäten [Lee et al. 1999; Poldermans et al. 1999]. Kardiale Komplikationen, wie z.B. myokardiale Ischämien, schwere Arrhythmien oder akutes Herzversagen kommen großen australischen Studien zur Folge in ca. 5% der Fälle bei

über 70-jährigen Patienten, die sich einem nicht kardiochirurgischen Eingriff unterziehen, vor [McNicol et al. 2007; Story et al. 2010]. Diese Komplikationen gehen innerhalb der ersten 30 Tage mit einer Mortalitätsrate von 15-20% einher. Im Durchschnitt müssen ältere Menschen 4-mal häufiger operiert werden, als Jüngere [Naughton et al. 2007]. Durch die vielfach mit dem Alter korrelierenden Komorbiditäten, besonders kardiovaskulärer Genese, geht dementsprechend ein erhöhtes perioperatives Risiko einher [Poldermans et al. 2009]. Zusätzliche psychische und physische Stressoren, wie bevorstehende Operationen, erhöhen das Auftreten kardialer Ereignisse, insbesondere in Hinsicht auf die demographische Entwicklung der immer älter werdenden Patienten [Fleisher und Eagle 2001].

Neben der präoperativen Evaluierung sind insbesondere intraoperative Maßnahmen zur permanenten Überwachung des Patienten, wie das Monitoring essentiell. Durch die elektrokardiographische Überwachung können sowohl myokardiale Ischämien aufgedeckt, als auch neu auftretendes Vorhofflimmern diagnostiziert werden. Letzteres ist mit einer Inzidenz von 8,5% während großen nicht kardiochirurgischen Operationen keine Seltenheit. Ursächlich hierfür konnten neben präoperativen Hypokaliämien, verfrühte Vorhofkontraktionen sowie eine Kardiomegalie oder intraoperativ chirurgische Komplikationen nachgewiesen werden [Burris et al. 2010]. Die Prävalenz des Vorhofflimmerns steigt mit zunehmendem Alter und kardiovaskulären Komorbiditäten. Es verdoppelt das Risiko für thromboembolische Ereignisse sowie den Tod [Camm et al. 2010]. Eine weitere Strategie zur intraoperativen Risikoreduktion ist die transösophageale Echokardiographie (TEE). Diese wird bei nicht kardiochirurgischen Eingriffen unter der Annahme einer prolongierten hämodynamischen Instabilität oder routinemäßig bei schwerer Beeinträchtigung der linksventrikulären Kontraktilität sowie höhergradig bestehenden Vitien besonders empfohlen [Poldermans et al. 2009]. Mit Hilfe dieser Untersuchung ist man in der Lage, neue Wandbewegungsstörungen zu identifizieren; sie ist damit ein starker Prädiktor für das Auftreten kardialer Komplikationen [Galal et al. 2010].

Des Weiteren dienen Medikamente der Prävention kardiovaskulärer Komplikationen: Statine sind sowohl in der Primär-, als auch in der Sekundärprävention anerkannte Therapien für die Vermeidung kardialer Komplikationen bei nicht-kardiochirurgischen Eingriffen. Es handelt sich um potente HMG-CoA-Reduktase-Hemmer, welche durch Pleiotropie zum einen die NO-Synthase-Aktivität hochregulieren und zum anderen antiinflammatorische und Plaque-stabilisierende Effekte haben [Laufs et al. 1998]. Diverse Studien konnten die Reduktion perioperativer myokardialer Ischämien und Mortalitäten bei nicht-kardiochirurgischen Patienten nachweisen [Durazzo et al. 2004;

Schouten et al. 2009]. Demnach ist die Initiierung einer Statintherapie bzw. ihre Fortsetzung im Rahmen einer Hochrisikoooperation bei Patienten mit kardialen Vorerkrankungen empfohlen [Poldermans et al. 2003]. Der Einsatz von Statinen ist im Allgemeinen bei vaskulären Erkrankungen, insbesondere bei jenen, die einen operativen Eingriff bedürfen, empfehlenswert [Heart Protection Study Collaborative Group 2007; Nowbar et al. 2014]. Statine scheinen ungeachtet der Ätiologie der vaskulären Erkrankung: erhöhte Blutfettwerte, Alter, Hypertonie, Rauchen, positive Familienanamnese oder auch Diabetes mellitus einen Risiko reduzierenden Effekt zu besitzen [Sever et al. 2003; Colhoun et al. 2004].

Während der Einsatz von Statinen also weitgehend unumstritten bleibt, gibt es viele Diskussionen um den prä- und perioperativen Einsatz von Betablockern. In multiplen randomisierten Studien konnte der reduzierende Effekt der Betablockertherapie auf myokardiale Ischämien und postoperative kardiale Ereignisse nachgewiesen werden [Poldermans et al. 1999; Dunkelgrun et al. 2009]. Leider sind oben genannte Studien aufgrund der Verfälschung von Ergebnissen und nicht auffindbarer Daten in Misskredit gefallen. Zudem wurden durch die POISE Studie Bedenken laut, die als multizentrische Studie den positiven Effekt des Betablockereinsatzes mit einem erhöhten Risiko für Bradykardien, Hypotonie, Schlaganfällen und die Gesamtmortalität relativierte [Devereaux et al. 2008]. Nach erneuter Reevaluation der vorhandenen Daten konnte nun gezeigt werden, dass zwar die Rate an Myokardinfarkten unter perioperativer Betablockade signifikant gesenkt wird, allerdings die Gesamtmortalitätsrate ansteigt [Bouri et al. 2014]. Es wird zurzeit ein Zusammenhang zwischen den unterschiedlich hohen Dosierungen der angewendeten Betablocker in den verschiedenen Studien diskutiert. Die aktuellen Guidelines der European Society of Cardiology (ESC) besagt weiterhin, dass die Initiierung einer low-dose Therapie mit  $\beta$ -Blockern, welche mindestens eine Woche vor dem chirurgischen Eingriff im Rahmen einer Hochrisikoooperation bei Patienten mit einem ASA Score  $> 3$  sowie bei Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie in Betracht gezogen werden kann [ESC/ESA Guidelines 2014].

Schlussfolgernd besteht aufgrund oben genannter Inzidenzen weiterhin dringender Anlass zur Verbesserung der Morbiditäts- und Mortalitätsraten. Aus diesem Grund haben wir eine Interventionsstudie initiiert, die sowohl die prä- und perioperative Risikoevaluation verbessern, als auch das postoperative kardiovaskuläre Risiko senken soll. Um den praktikablen Ansatz dieser Studie erläutern zu können, werden zunächst die Pathologien von Herzkreislauferkrankungen und ihrer zugrundeliegenden Endotheldysfunktionen dargelegt.

## 2.2 Vaskuläre Integrität

Das Endothel bildet als einschichtiges Plattenepithel die innerste Wandschicht (Tunica intima) aller Blut- und Lymphgefäße des Herz- Kreislaufsystems und entspricht damit einer Fläche von ungefähr 5000 m<sup>2</sup>. Es dient als stoffwechselaktive Barriere der Regulierung des Gefäßtonus und nimmt Einfluss auf die Homöostase, die Thrombozytenaggregation und die Blutgerinnung [Vane et al. 1990]. Als reaktive Antwort auf mechanische Stimuli, wie Scherkräfte, Druckerhöhung oder hormonelle Stimuli ist das Endothel in der Lage vasomotorisch regulierende Mediatoren freizusetzen sowie inflammatorische Prozesse in Gang zu setzen und die Homöostase zu beeinflussen [Endemann et al. 2004; Stocker et al. 2004]. Zu den vasodilatierenden Substanzen zählen zum Beispiel das Stickstoffmonoxid (NO) und Prostazykline; zu den Vasokonstriktoren zählen unter anderem Endothelin I sowie die reaktive Sauerstoffspezies (ROS) [Schiffrin 2001]. Damit besitzen Endothelzellen eine einflussreiche Rolle in der Aufrechterhaltung des vaskulären Tonus und des total peripheren Widerstandes [Vanhoutte et al. 1988].

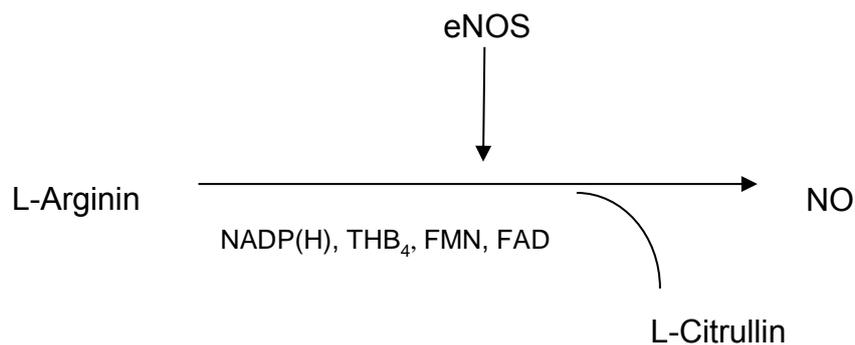
## 2.3 Stickstoffmonoxid

Erstmalig wurde es 1980 als „Endothelium-derived relaxing factor“ (EDRF) von Furchgott und Zawadzki beschrieben [Furchgott et al. 1980]. Stickstoffmonoxid (NO) ist einer der bedeutendsten vasodilatierenden Substanzen, welche vom Endothel mittels der NO-Synthase aus ihrem Substrat, L-Arginin, in Anwesenheit der Kofaktoren Tetrahydrobioptin (THB<sub>4</sub>), Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH), Flavin-Adenin-Dinukleotid/Flavin-Mononucleotid (FAD/FMN) unter Entstehung von L-Citrullin gebildet wird [Moncada et al. 1989].

NO ist ein sehr kurz wirksamer Mediator mit Halbwertszeiten im Sekundenbereich, der über vielfältige Mechanismen verfügt und sowohl die Thrombozytenaggregation, die LDL-Oxidation als auch proinflammatorische und proliferierende Prozesse inhibiert [Moncada et al. 1993; Radomski et al. 1987; Kubes et al. 1991; Hogg et al. 1993; Garg et al. 1989].

Es sind drei Isoformen der NO-Synthase (NOS) bekannt, wobei NOS I oder auch neuronale NO-Synthase (nNOS) vor allem im Nervengewebe exprimiert wird und NO als Neurotransmitter zur Verfügung stellt. Die NOS II, die induzierbare NO-Synthase (iNOS), kann ihrerseits in unterschiedlichen Zelltypen durch das Vorhandensein diverser Faktoren, wie zum Beispiel Lipopolysaccharide oder Zytokine, exprimiert werden. Die iNOS spielt insbesondere bei immunologischen Reaktionen eine spezielle Rolle

[Moncada et al. 1993]. Die vom Endothel gebildete NOS III (eNOS) ist in Thrombozyten und Kardiomyozyten nachzuweisen [Förstermann et al. 1995]. Während die nNOS und die eNOS konstitutiv exprimiert werden und Stickstoffmonoxid Calcium/Calmodulin-abhängig in niedrigen Raten produzieren, ist die iNOS Calcium-unabhängig und kann NO viel schneller in höheren Raten produzieren. Alle drei Isoformen benötigen als Substrat die Aminosäure L-Arginin um diese zu NO und Citrullin umzuwandeln (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Bildung von Stickstoffmonoxid (NO) durch die endotheliale NO-Synthase (eNOS) aus dem Substrat L-Arginin mittels der Zuhilfenahme von Tetrahydrobioptin (THB<sub>4</sub>), Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADP(H)), Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD), Flavin-Mononucleotid (FMN) unter der Bildung von L-Citrullin.

## 2.4 Endotheliale Dysfunktion

Herz-Kreislaufkrankungen stellen bereits seit Jahren die Haupttodesursache in Deutschland dar [Statistisches Bundesamt 2014]. Es versterben jährlich ca. 41% an akuten kardiovaskulären Ereignissen, welche sich zumeist auf vorbestehende, endotheliale Dysfunktionen begründen. Endotheliale Funktionsstörungen sind das Unvermögen des Endothels auf Stressoren, wie Scherkräfte, Druckerhöhungen und dergleichen adäquat mit der Freisetzung entsprechend vasodilatierender Mediatoren zu reagieren [Furchgott et al. 1980]. Diese Erkenntnis konnte 10 Jahre später mit der arteriellen Hypertonie in Verbindung gebracht werden [Panza et al. 1990]. Ursächlich eben dieser funktionellen Störungen des Endothels sind neben der arteriellen Hypertonie, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus und Nikotinkonsum, auch Hyperhomocysteinämie sowie entzündliche Prozesse anzuführen [Ross 1999]. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass erhöhte Konzentrationen von Interleukin 6 (IL-6), dem Chemokin MCP-1 oder des C-reaktiven Proteins (CRP) zu einer Funktionsstörung des Endothels führen und somit die vaskuläre Integrität des Endothels und sein empfindliches Gleichgewicht stören. Daher ist ein Zusammenhang zwischen

chronischer Entzündung und kardiovaskulären Erkrankungen sehr wahrscheinlich [Cleland et al. 2000; De Jager et al. 2006]. Man erkannte demnach, dass die endotheliale Dysfunktion nicht nur mit mangelnder Vasodilatation, sondern auch mit proinflammatorischen und prothrombotischen Prozessen einhergeht [Endemann et al. 2004].

Es konnte gezeigt werden, dass die Funktionsstörung des Endothels mit diversen weiteren Erkrankungen des Herzkreislaufsystems in Verbindung steht oder gar ursächlich für deren Entstehung ist, wie zum Beispiel der koronaren Herzkrankheit (KHK), der chronischen Herzinsuffizienz, der peripher arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK), Diabetes mellitus und der chronischen Niereninsuffizienz [Endemann et al. 2004]. Dysfunktionales Endothel hat demnach nicht genügend Stickstoffmonoxid (NO) für die Aufrechterhaltung der regelhaften Homöostase zur Verfügung. Die NO-Bioverfügbarkeit, sprich der Anteil des NO in vivo, der biologisch aktiv werden kann, wird durch die Konzentration der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) oder anderer reaktiver Moleküle, wie dem C-reaktiven Protein herabgesetzt [Venugopal et al. 2002]. ROS können durch direkte Inaktivierung des NO zur Entwicklung endothelialer Dysfunktion beitragen [Rueckschloss et al. 2002]. Es konnte nachgewiesen werden, dass dieser Zustand mit der Entstehung pathologischer kardiovaskulärer Prozesse einhergeht, z.B. der Entstehung der Atherosklerose [Cai et al. 2000]. ROS führen zur Hochregulierung von Adhäsionsproteinen (VCAM I und ICAM I) sowie chemotaktischen Molekülen (MCP-I), die eine große Bedeutung im Rahmen der Entstehung von Atherosklerose spielen [Griendling et al. 2003]. Im Umkehrschluss lässt sich daher ableiten, dass Stickstoffmonoxid als antisklerotisches Molekül bezeichnet werden kann.

Ein weiterer Grund für eine verminderte NO-Bioverfügbarkeit ist die reduzierte Aktivität der endothelialen NO-Synthase (eNOS) entweder durch ungenügendes Vorkommen seines Substrates L-Arginin oder der Anwesenheit vermehrter NO-Synthase-Inhibitoren.

## **2.5 NO-Synthaseinhibitoren – ADMA**

1992 haben Vallance et al. feststellen können, dass das asymmetrische NG-NG-Dimethylarginin (ADMA) ein natürlich vorkommender Inhibitor der NO-Synthase ist, welcher die NO-Produktion bereits bei Konzentrationen von 3-15  $\mu\text{mol/L}$  hemmt [Vallance et al. 1992, Kurose et al. 1995]. ADMA reduziert demnach die NO-Bioverfügbarkeit und trägt somit zu der Entstehung und dem Progress endothelialer Dysfunktionen und damit auch kardiovaskulärer Erkrankungen bei.

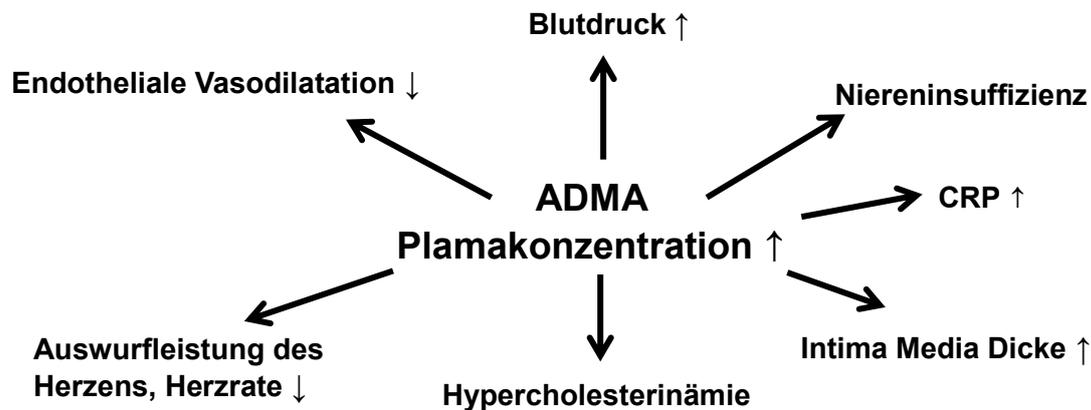
Es konnte in diversen Studien nachgewiesen werden, dass ADMA unter pathophysiologischen Bedingungen mit weiteren Risikofaktoren für Endothelschädigungen, wie zum Beispiel Hypercholesterinämie, Hypertonie, Obesitas und Diabetes mellitus assoziiert ist [Böger et al. 1998b; Achan et al. 2003; Eid et al. 2004; Abbasi et al. 2001]. Die für das Endothel schädlichen Effekte dieser Komorbiditäten werden weitgehend über die Dysfunktionalität des endothelialen L-Arginin/NO-Stoffwechselweges vermittelt.

Folglich sind erhöhte Konzentrationen des asymmetrischen Dimethylarginins sowohl bei Atherosklerose, als auch assoziierten Erkrankungen, wie z.B. der koronaren Herzerkrankung, chronischen Herzinsuffizienz, peripher arteriellen Verschlusskrankheit sowie dem ischämischen Insult, nachgewiesen worden [Böger et al. 1997; Mittermayer et al. 2006; Miyazaki 1999; Yoo et al. 2001].

Weiterhin konnte herausgestellt werden, dass das asymmetrische Dimethylarginin selbst ein unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten und Fortschreiten kardiovaskulärer Morbiditäten sowie ein Prädiktor für etwaige Komplikationen und Mortalität darstellt [Schnabel et al. 2005]. In einer von Nijveldt et al. durchgeführten prospektiven Studie konnte ADMA als starker, unabhängiger Prädiktor für Tod unter kritisch erkrankten Patienten auf einer Intensivstation herausgestellt werden [Nijveldt et al. 2003]. Der Einfluss hoher ADMA-Plasmakonzentrationen wird in Abbildung 2 dargestellt.

2007 untersuchten Maas et al. den Zusammenhang zwischen der plasmatischen ADMA-Konzentration und dem perioperativen kardiovaskulären Risiko bei elektiven, nicht kardiochirurgischen Operationen. Es konnte gezeigt werden, dass die präoperative ADMA-Plasmakonzentration bei einer Konzentration von  $>0,86 \mu\text{mol/l}$  signifikant mit einer erhöhten perioperativen Morbidität einhergeht [Maas et al. 2007].

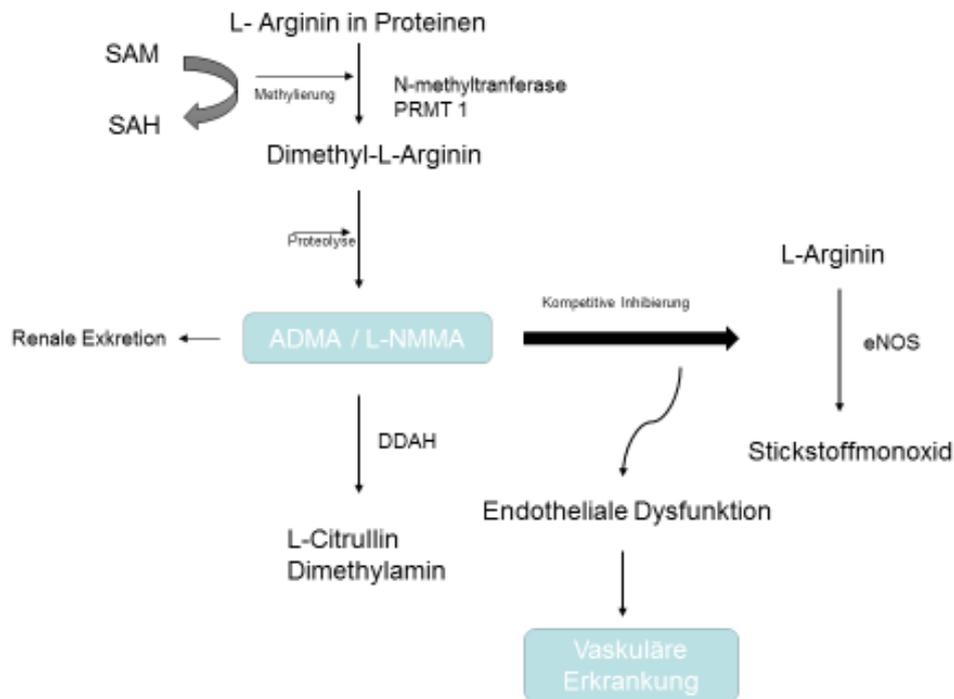
Darüber hinaus konnte die Bedeutung von ADMA als perioperativer Risikomarker herausgestellt werden, welcher Patienten, die durch bereits bekannte perioperative Evaluationssysteme lediglich mit einem moderaten Risiko für Komplikationen eingestuft worden sind, als Hochrisikopatienten identifizierte [Maas et al. 2007].



**Abbildung 2:** Überblick über die Einflüsse einer erhöhten ADMA-Plasmakonzentration.

ADMA selber entsteht durch den Abbau methylierter L-Arginin-Proteine in die Komponenten ihrer Aminosäure während des hydrolytischen Proteinumsatzes [McDermott et al. 1976]. Die Enzyme Protein-Arginin-Methyltransferase (PRMT Typ 1 und 2) übertragen die Methylgruppe S-Adenosylmethionin (SAM) auf L-Arginin unter Herstellung des S-Adenosylhomocysteins (SAH). Während Typ 1 dieses Enzyms die Umwandlung in asymmetrische Dimethylarginine katalysiert, führt Typ 2 der Protein-Arginin-Methyltransferase zur Entstehung von symmetrischen Dimethylargininen (SDMA) [Tang et al. 2000]. Beide Formen der Protein-Arginin-Methyltransferase jedoch sind in der Lage NG-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA) herzustellen (<10%). Nur die asymmetrisch methylierten Argininrückstände (L-NMMA, ADMA), nicht aber das symmetrisch methylierte Arginin (SDMA) sind kompetitive Inhibitoren der NO-Synthase. Im Vergleich zur gemessenen Monomethyl-L-Arginin-Plasmakonzentrationen liegen in vivo deutlich höhere Konzentrationen des asymmetrischen Dimethylarginins vor, sodass diesem eine höhere klinische Relevanz zugerechnet wird [Vallance et al. 1992].

Die Aktivität der Protein-Arginin-Methyltransferase 1 ist unter vermehrten Scherkräften gesteigert und so auch die Produktionsrate des asymmetrischen Dimethylarginins [Osanai et al. 2003]. Die Freisetzung desselben aus den Endothelzellen ist ebenfalls bei Anwesenheit von nativen oder oxidierten LDL erhöht, dementsprechend bei Patienten mit Hypercholesterinämie [Böger et al. 2000]. Neben der renalen Eliminierung wird ADMA vor allem enzymatisch durch die NG-NG-Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase (DDAH) abgebaut, wie sich aus Studien an Patienten mit fortgeschrittener Niereninsuffizienz, bei denen ADMA stark akkumulierte, schließen lässt [Zoccali et al. 2001]. Die DDAH baut ADMA zu Dimethylaminen und L-Citrullin ab (Abbildung 3).



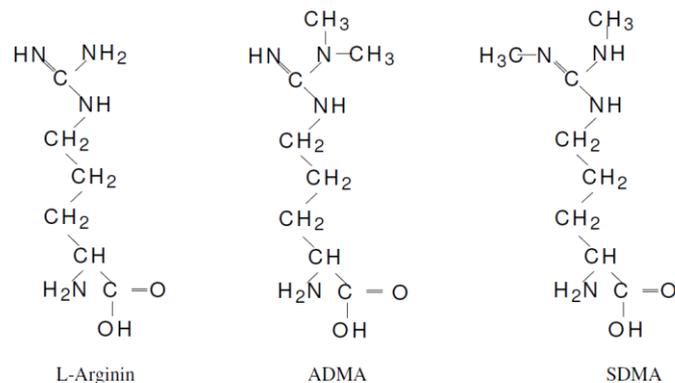
**Abbildung 3:** Übersicht über die Synthese und den Metabolismus von ADMA. Arginin-haltige Proteine werden mittels der Protein-Arginin-N-Methyltransferase PRMT 1 methyliert. In diesem Prozess wird S-Adenosylmethionin (SAM), welches als Donor für die Methylgruppe dient, zu S-Adenosylhomocystein (SAH) umgewandelt. Unter Proteolyse entsteht aus dem methylierten Protein, asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) sowie N-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA). ADMA ist ein kompetitiver Inhibitor der endothelialen NO-Synthase und verringert somit die Produktion von Stickstoffmonoxid. Dies führt wiederum zu einer vermehrten endothelialen Dysfunktion und somit zu der Entstehung vaskulärer Erkrankungen. ADMA wird zu geringen Anteilen renal eliminiert. Hauptsächlich jedoch erfolgt die Eliminierung über den metabolischen Abbauweg mit Hilfe des Enzyms: Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase (DDAH) zu L-Citrullin und Dimethylamin.

Die DDAH wurde in nahezu allen Geweben gefunden mit besonders großer Aktivität in Niere und Leber [Kimoto et al. 1993]. Es besitzt zwei Isoformen: die DDAH 1 aktiv in Geweben, die ebenfalls die neuronale NO-Synthase exprimieren und die DDAH 2, welche besonders in endothelialen Zellen gemeinsam mit der eNOS co-exprimiert wird [Leiper und Vallance 1999]. In vitro ist die DDAH-Aktivität unter oxidativem Stress durch TNF-Alpha oder oxidiertem LDL-Cholesterin sowie elevierten plasmatischen Glucosespiegeln reduziert [Ito et al. 1999; Weis et al. 2004]. Erhöhte ADMA-Konzentrationen entstehen meist durch den eingeschränkten Metabolismus der DDAH und/oder durch eine herabgesetzte hepatische sowie renale Funktion [Vallance et al. 2004]. Die durch Inhibierung der DDAH verursachte Vasokonstriktion kann durch L-Arginin, als Substrat der NO-Synthase, wieder aufgehoben werden [MacAllister et al. 1996]. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass eine DDAH-Überexpression zu einer verminderten ADMA-Plasmakonzentration sowie erhöhten NO-Bioverfügbarkeit führt; in

der Folge kann es zu einem Abfall des systemischen Blutdruck und darüber hinaus zu einer verbesserten Heilungspotenz endothelialer Schädigungen kommen [Dayoub et al. 2003; Konishi et al. 2007]. Mutmaßlich müsste durch erhöhte L-Arginin-Plasmakonzentrationen ein äquivalenter Effekt erzielt werden können.

Ferner wurde der Einfluss bereits etablierter Pharmakotherapien bei kardiovaskulären Erkrankungen auf die ADMA-Plasmakonzentration untersucht mit folgenden Ergebnissen: unter der Gabe von ACE-Hemmern sowie oralen Antidiabetika, insbesondere Glitazone und Metformin, konnte eine moderate Reduktion der plasmatischen ADMA-Konzentration nachgewiesen werden [Delles et al. 2002; Wakino et al. 2005; Asagami et al. 2002]. Die positiven vaskulären Effekte einer Cholesterinsenkenenden Medikation (Statine) sind in Teilen auf ihre Fähigkeit die eNOS hochzuregulieren zurückzuführen [Laufs et al. 1998]. Jedoch haben die HMG-CoA-Reduktase-Hemmer keinerlei Einfluss auf die ADMA-Plasmakonzentration; es konnte gezeigt werden, dass Simvastatin die endotheliale Funktion nur bei Patienten mit niedrigen ADMA-Plasmakonzentrationen verbessern konnte, nicht aber bei hohen Konzentrationen [Valkonen et al. 2003; Young et al. 2008]. Eine Kombination von Simvastatin mit L-Arginin allerdings half die endothelabhängige Vasodilatation zu verbessern [Böger et al. 2007].

Die chemischen Strukturen von L-Arginin, SDMA und ADMA werden im Vergleich in Abbildung 4 veranschaulicht.



**Abbildung 4:** chemische Struktur von L-Arginin, asymmetrischem sowie symmetrischem Dimethylarginin.

## 2.6 L – Arginin

L-Arginin zählt zu den semiessentiellen Aminosäuren. In Fällen von traumatischem oder metabolischem Stress kann L-Arginin bei inadäquater Versorgung in Abhängigkeit des Bedarfs ebenfalls als essentiell angesehen werden [Zhou et al. 2007]. L-Arginin wird dem Körper auf drei verschiedenen Wegen zur Verfügung gestellt. Erstens über die intestinale Resorption mit etwa 25%-30% (5-7 g). Weiterhin wird L-Arginin (ca. 15-20 g) über die intestinal-renale Achse endogen synthetisiert [Patel et al. 2016]. Hierbei dient L-Citrullin, eine nicht-essentielle Aminosäure, als Ausgangsstoff für die L-Arginin-Synthese [Vaughn et al. 2001]. Über das Zwischenprodukt L-Argininsuccinat wird erneut L-Arginin bereitgestellt [Curis et al. 2005]. Als dritte Option kann L-Arginin über die Proteinumwandlung sowie den Proteinabbau hergestellt werden [Patel et al. 2016].

Besonders reichhaltig ist L-Arginin in Sojaprodukten, Erd- und Walnüssen sowie diversen Fischprodukten enthalten [Souci et al. 1994]. Nach oraler Aufnahme unterliegt diese Aminosäure jedoch extensiver präsystemischer und systemischer Elimination, u.a. durch Bakterien des Verdauungstraktes bzw. mittels der dort und in der Leber vorhandenen Arginase [Morris 2004]. Die orale Bioverfügbarkeit beträgt ca. 70% [Bode-Böger et al. 1998]. Die durchschnittliche L-Arginin-Plasmakonzentration liegt zwischen 60-140  $\mu\text{mol/L}$  je nach Geschlecht und Alter [Cynober et al. 2002]. Neben seiner Bedeutung für den Proteinmetabolismus spielt L-Arginin bei diversen metabolischen Prozessen eine versatile Rolle, wie zum Beispiel für die Synthese von Kreatinin, L-Ornithin, L-Glutamat sowie auch der Polyamine [WU et al. 1998].

Weiterhin dient L-Arginin als Substrat für die endotheliale NO-Synthase, welche die Aminosäure über das  $\gamma^+$ -Transportersystem im Austausch gegen kationische Aminosäuren in die Endothelzellen aufnimmt. Hohe ADMA-Plasmakonzentrationen verringern nachweislich die Aktivität des  $\gamma^+$ -Transporters [Closs et al. 2004]. Obwohl die intrazellulären Konzentrationen des L-Arginin die extrazellulären weit übersteigen, konnte bewiesen werden, dass die extrazellulär zur Verfügung stehende Konzentration durch schnelle Aufnahme und Umsetzung durch die NO-Synthase für die NO-Produktion verwendet wird [Böger et al. 2000; Schmidt et al. 1988]. Es konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass ein kleiner Teil von supplementiertem, stickstoffmarkiertem L-Arginin nicht dem hepatischen Harnstoffkreislauf zufällt, sondern als Präkursor für die NO-Produktion zur Verfügung steht [Castillo et al. 1993; Böger et al. 2004].

In diversen Studien konnten die Effekte einer L-Arginin-Substitution nachgewiesen werden. Diese reichen von einer verbesserten Wundheilung sowie Immunantwort, bis hin zu Vorteilen in der Behandlung der Präeklampsie sowie der pulmonalen Hypertonie [Barbul et al. 1985; Facchinetti et al. 1999; Mehta et al. 1995]. Durch additive L-Arginin-

Zufuhr konnte die Proliferation glatter Muskelzellen und die Akkumulierung von Monozyten inhibiert sowie die endothelabhängige Hemmung der Thrombozytenaggregation verbessert werden [Böger et al. 1998a; Wang et al. 1996; Tsao et al. 1994]. Eine intravenöse Applikation von 30 g L-Arginin führte in humanen Versuchsreihen zu einer Vasodilatation, welche sich sowohl in gesunden Probanden, als auch Patienten mit koronarer Herzerkrankung reproduzieren ließ [Bode-Böger et al. 1998; Böger et al. 1996]. Intravenöse L-Arginin-Substitutionen führten darüber hinaus zu einem Konzentrationsanstieg des Wachstumshormons sowie des Insulins. Diese endokrinologischen Effekte konnten mittels Somatostatin-Infusion blockiert werden [Bode-Böger et al. 1999].

Bei Patienten mit arterieller Hypertonie konnte gezeigt werden, dass eine Supplementierung mit L-Arginin zum einen die vasomotorische Funktion des Endothels durch vermehrte NO-Produktion optimiert und zum anderen eine verminderte Aktivität von Endothelin-1, Angiotensin II sowie eine Senkung des oxidativen Stresses zur Folge hat. In Studien konnte dadurch ein hypotensiver Effekt erzielt werden [Gokce 2004; Ast et al. 2010].

1991 wurde die erste klinische Studie mit dem Ziel initiiert, die vaskuläre Funktionalität mittels einer L-Arginin-Substitution bei Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit zu verbessern [Drexler et al. 1991]. In diesem Sinne erfolgte während einer Herzkatheteruntersuchung die intrakoronare Applikation von L-Arginin sowie die Messung der koronaren Flussreserve. Der koronare Blutfluss konnte unter L-Arginin-Zufuhr signifikant erhöht werden. Diesen Erkenntnissen folgend sind in der Vergangenheit mannigfaltige Studien initiiert worden, welche mittels parenteraler oder oraler Supplementierung die L-Arginin-Plasmakonzentration zu erhöhen versuchten, um entsprechend NO-assoziierte Effekte zu erzielen. In einigen Studien konnten diese Ergebnisse reproduziert werden, in anderen jedoch nicht, sodass die Frage aufgeworfen wurde, wie dieser Widerspruch zu erklären sei [Lerman et al. 1998; Bode-Böger et al. 2003; Walker et al. 2001; Blum et al. 2000].

In vitro durchgeführte Experimente haben gezeigt, dass eine L-Arginin-Substitution keine Auswirkung auf die endothelabhängige Vasodilatation hat [Mügge et al. 1991]. Im Rahmen physiologisch vorliegender L-Arginin-Konzentrationen ist die NO-Synthase, entsprechend ihrer Enzymkinetik, ausreichend mit L-Arginin gesättigt, sodass eine additive L-Arginin-Zufuhr keinerlei Effekt auf die NO-Synthase haben sollte. Die Diskrepanz der in vitro erhobenen Messungen und des in vivo vorliegenden L-Arginin-Effektes wurde als L-Arginin-Paradoxon beschrieben. Dieses konnte durch die Anwesenheit von NO-Synthaseinhibitoren, wie z.B. ADMA, erklärt werden [Tsikas et al.

2000a]. Im Hinblick auf die erwähnten, widersprüchlichen Studienresultate stellt die vorherrschende plasmatische ADMA-Konzentration ebenfalls einen guten Erklärungsansatz dar. Denn die Aktivität der NO-Synthase ist abhängig von der Ratio zwischen der plasmatischen L-Arginin- und ADMA-Konzentration; das heißt die L-Arginin/ADMA-Ratio ist eine Determinante der NO-Produktion durch die NO-Synthase [Tsikas et al. 2000b; Böger et al. 2003]. Das bedeutet, dass die vorherrschende ADMA-Plasmakonzentration die individuelle Antwort auf eine L-Arginin-Supplementierung beeinflusst. Hornig et al. konnten beispielsweise aufzeigen, dass mittels L-Arginin-Supplementierung eine verbesserte endothelial bedingte Vasodilatation in Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und erhöhten ADMA-Plasmakonzentrationen erzielt werden kann; ein Effekt auf die endothelabhängige Vasodilatation in gesunden Probanden (mit niedrigen ADMA-Plasmakonzentrationen) blieb jedoch aus [Hornig et al. 1998].

Eine erhöhte ADMA-Plasmakonzentration geht demnach mit einem relativen L-Arginin-Defizit einher. Durch Erhöhung der plasmatischen L-Arginin-Konzentration könnte die Ratio ausgeglichen und der physiologische Status wiederhergestellt werden, während keine signifikanten Auswirkungen auf ein normwertiges L-Arginin/ADMA-Verhältnis zu erwarten wären.

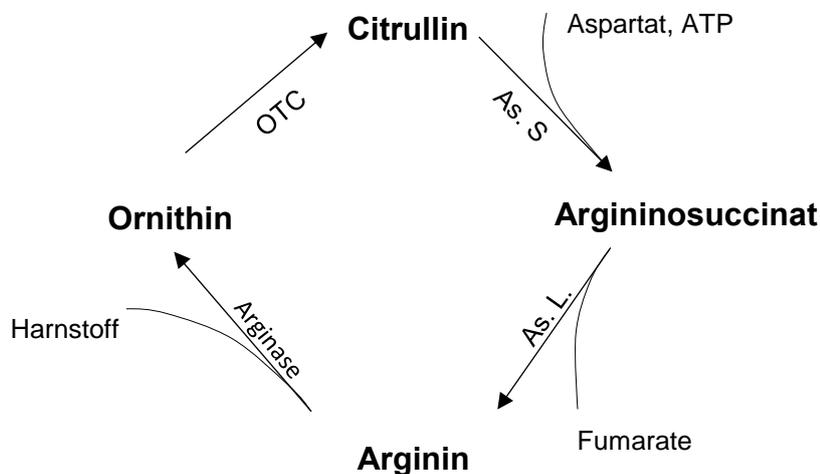
Allerdings soll nicht unerwähnt bleiben, dass exorbitant hohe Konzentrationen des L-Arginin die Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) inhibieren und somit auch zu einer Steigerung der ADMA-Plasma-Konzentration führen können [Wang et al. 2006]. Daraus ergibt sich die Problematik einer ausreichend hohen L-Arginin-Supplementierung; die L-Arginin/ADMA-Ratio und somit die NO-Bioverfügbarkeit zu verbessern, ohne einen kontraproduktiven Effekt zu erzielen.

## **2.7 L-Citrullin**

Die Bedeutsamkeit der L-Arginin-Supplementierung konnte nun herausgestellt werden, jedoch unterliegt L-Arginin einer wie bereits erwähnt extensiven präsystemischen und systemischen Elimination, aufgrund einer intestinalen Arginase-Aktivität. Die nicht proteinogene Aminosäure L-Citrullin hingegen unterliegt lediglich einem systemischen Metabolismus. Diese Aminosäure wird sowohl synthetisiert, über die Nahrung aufgenommen, als auch als Abbauprodukt aus dem Harnstoffzyklus gewonnen, sodass die Bioverfügbarkeit sehr hoch ist. Über den Darm wird L-Citrullin aufgenommen und letztlich hepatogen über L-Argininsuccinat zu L-Arginin verstoffwechselt (siehe Abbildung 5). Es dient somit als Präkursor für L-Arginin und damit für NO [Curis et al. 2005; Waugh et al. 2001]. Viele Zelltypen, die Arginin in Stickstoffmonoxid umwandeln

können, sind daher ebenfalls in der Lage, zirkulierendes L-Citrullin aufzunehmen. L-Citrullin werden dementsprechend NO-assoziierte Effekte zugesprochen, z.B. ein verringerter vaskulärer Tonus [Raghavan et al. 2001]. L-Citrullin selber kann wiederum aus L-Arginin unter Bildung von NO hergestellt werden (siehe Abbildung 1). Dies wird auch als NO-Zyklus beschrieben [Curis et al. 2005]. In aktivierten Makrophagen beläuft sich der Citrullin-Anteil aus diesem Kreislauf auf bis zu 20% des produzierten Citrullin [Murphy et al. 1998].

Die orale Gabe von L-Citrullin steigert die L-Arginin-Plasmakonzentration erheblich. Es scheint demnach genauso effektiv zu sein wie die orale Supplementierung mit einfachem L-Arginin [Schwedhelm et al. 2007a].



**Abbildung 5:** vereinfacht schematische Darstellung der Metabolisierung von Citrullin zu Arginin. Citrullin wird von der Argininosuccinat-Synthase (As. S.) zu Argininosuccinat unter Verwendung von Aspartat und ATP umgewandelt. Die Argininosuccinat-Lyase (As. L.) bildet dann unter Abspaltung von Fumaraten das Arginin. Im weiteren Verlauf entsteht durch den Abbau des Arginin Harnstoff und Ornithin. Letzteres kann mitochondrial mittels der Ornithin-Transcarbamylase (OTC) in Citrullin metabolisiert werden.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Studienprotokoll**

Diese klinische Studie wurde als prospektive, monozentrische, placebokontrollierte Doppelblind-Studie im Parallelgruppen-Design konzipiert und begann nach Erhalt des Ethikvotums (PV3466) der Ethikkommission Hamburg im Januar 2011.

Die Patienten wurden im Vorfeld ausführlich über die Zielsetzung, die Prüfmedikation und Risiken sowie den Versicherungsschutz aufgeklärt. Wenn die Kriterien für den Einschluss anhand der Anamnese, körperlichen Untersuchung und Blutanalyse erfüllt waren und die Einverständniserklärung unterzeichnet vorlag, konnten die Patienten in die Studie aufgenommen werden.

Es wurden Patienten diverser Fachabteilung, wie der Allgemein Chirurgie, hepatobiliären Chirurgie, Gynäkologie als auch der Urologie in die Studie randomisiert.

#### **3.2 Ein- und Ausschlusskriterien**

##### **3.2.1 Einschlusskriterien**

1. Männliche und weibliche Patienten im Alter zwischen 30-75 Jahren
2. Elektive abdominale und/oder thorakale Operation (keine kardiochirurgischen Operationen)
3. kardiovaskulärer Risiko-Score entsprechend der American Society of Anaesthesiology (ASA Score) II-IV
4. Vorliegen der unterzeichneten Einverständniserklärung

##### **3.2.2 Ausschlusskriterien**

1. Teilnahme an einer Studie in den letzten 3 Monaten
2. Diabetische Retinopathie
3. Schwangere oder stillende Patientinnen
4. Patienten mit bekanntem Drogen-, Medikamenten- oder Alkoholabusus
5. Jede chronische Erkrankung (bösartig oder nichtbösartig), die die Lebenserwartung des Patienten möglicherweise auf eine Dauer reduziert, die es unsicher macht, dass der Patient die 30-tägige Studienperiode überleben würde
6. Jede somatische oder psychische Erkrankung, die die Teilnahme an der Studie erschweren könnte

7. Aktive Lebererkrankung oder Leberinsuffizienz (Serum AST oder ALT > 1.5-fach über der oberen Grenze der gängigen Norm)
8. Fortgeschrittene Niereninsuffizienz (berechnete Kreatinin-Clearance <30 ml/min [Cockcroft-Gault Formel])
9. Nephrotisches Syndrom oder Dysproteinämie
10. Vorherige Intoleranz gegen L-Arginin bzw. hohe allergische Bereitschaft

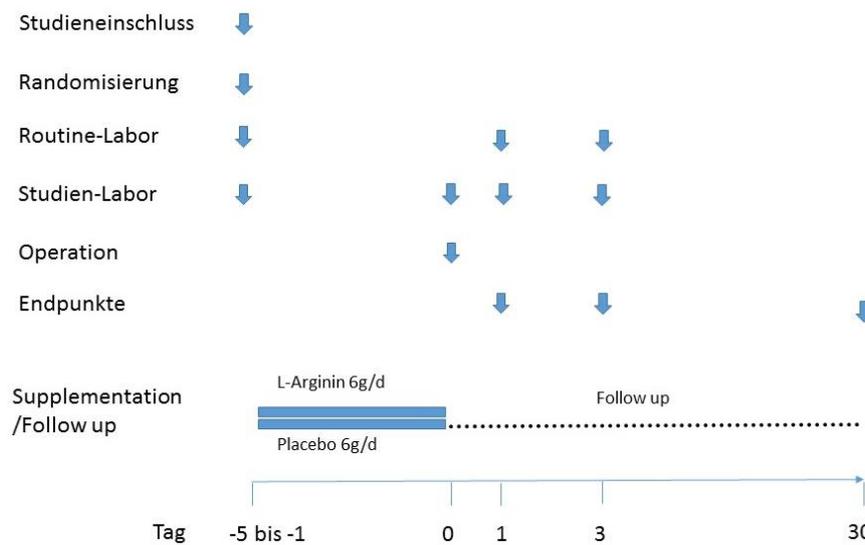
### 3.3 Studienablauf

Die Rekrutierung erfolgte in der Prämedikationsambulanz der Klinik für Anästhesiologie des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf. Vor elektiven Eingriffen werden die Patienten für gewöhnlich ein bis sieben Tage routinemäßig für ein anästhesiologisches Aufklärungsgespräch im Hinblick auf die bevorstehende Operation einbestellt. Im Rahmen dieses Prämedikationsgespräches wurden die Patienten über die Bedeutung und die Ziele der Studie informiert. Unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien und nur bei Vorliegen der unterschriebenen Einverständniserklärung erfolgte die Teilnahme an der Studie. Das ausführliche Anamnesegespräch wurde mit Hilfe eines standardisierten präoperativen Evaluationsbogens durchgeführt (siehe Punkt 10.1/10.2). Dieser beinhaltete neben den Stammdaten, insbesondere Informationen zu kardiovaskulären Vorerkrankungen und Risikofaktoren, inklusive der Rauchgewohnheiten, Belastbarkeit in MET und der familiären Vorbelastung sowie stattgehabter kardiovaskulärer Diagnostik. Des Weiteren wurde die aktuelle Dauermedikation mit Fokus auf Antihypertensiva, Herzinsuffizienz- sowie Hormonersatz- und Lipid-senkende Therapien dokumentiert. Mittels der ASA-Klassifikation und dem Revised Cardiac Risk Index nach Lee wurde das kumulierte Risiko in den bisher gängigsten perioperativen Risiko-Scores ermittelt. Neben den eben genannten Bewertungssystemen haben wir weiterhin das operationsspezifische Risiko ermittelt; wir unterschieden dabei in Hochrisikoooperation ja oder nein. Es handelte sich um eine Hochrisikoooperation bei mindestens einer der folgenden Kriterien:

1. Hoch intraabdomineller Eingriff
2. Zweihöhleneingriff
3. Intrathorakaler Eingriff
4. Suprainguinal vaskulärer Eingriff
5. Blutverlust > 1 Liter
6. Operationsdauer > 3 Stunden

Die körperliche Untersuchung erfolgte in der Prämedikationsambulanz durch den diensthabenden Anästhesisten. Darüber hinaus erfolgten hämatologisch, klinisch-chemische Analysen, welche ein kleines Blutbild, CRP, Transaminasen, Kreatinin und Elektrolytwerte sowie die Gerinnungsparameter umfassten. Diese Parameter deckten sich zumeist mit der präoperativen Routine-Diagnostik, sodass lediglich eine zusätzliche Probe (9 ml EDTA-Monovette) für die Bestimmung der ADMA- und L-Arginin-Plasmakonzentration pro jeweiligen Studientag notwendig war. Die Auswertung der Routinelaborparameter erfolgte im Institut für Klinische Chemie/Zentrallabor. Die Bestimmung der ADMA- und L-Arginin-Plasmakonzentration wurde im Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie mithilfe der Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MC) durchgeführt.

In die Studie randomisierte Patienten erhielten über einen Zeitraum von einem bis maximal fünf Tagen zweimal täglich drei Gramm eines L-Arginin/L-Citrullin-Kombinationspräparats versus eines Placebos zur oralen Einnahme. Jede Kapsel enthielt 333 mg L-Arginin und 167 mg L-Citrullin. Die letzte Applikation erfolgte für gewöhnlich am Morgen der Operation. Intraoperativ sowie am ersten und dritten postoperativen Tag erfolgte eine weitere Blutentnahme für eine Verlaufskontrolle der ADMA- sowie L-Arginin-Plasmakonzentration. Im Rahmen der postoperativen Visiten wurden die Patienten bis zur Entlassung täglich anamnestiziert und durch die Stationsärzte körperlich untersucht. Das Auftreten eines primären oder sekundären Endpunktes konnte während des Krankenhausaufenthalts mit Hilfe der digitalen Krankenakte des Patienten nachvollzogen und sämtliche kardiale und nicht kardiale Ereignisse in einem standardisierten postoperativen Fragebogen dokumentiert werden (siehe Punkt 10.3). Nach einem Follow-up von 30 Tagen sind Teilnehmer der Studie telefonisch kontaktiert und erneut zum Auftreten etwaiger primärer oder sekundärer Endpunkte befragt worden; diese Befragung wurde ebenfalls in dem postoperativen Fragebogen festgehalten. Alle klinischen Ereignisse oder Änderungen im Routinelabor wurden auf diese Weise erhoben und der Datenauswertung zugeführt. Dies erfolgte gegenüber den klinischen Daten stets verblindet.



**Abbildung 5:** Schema des Studienablaufs

### 3.4 Primär kombinierte Endpunkte

Zur Ermittlung der Effektivität einer perioperativen L-Arginin-Supplementierung wurden in Anlehnung an die von Maas et al. publizierte Studie folgende primäre Endpunkte definiert [Maas et al. 2007]:

1. Akutes Koronarsyndrom (ACS)
2. dekompensierte Herzinsuffizienz
3. zerebrovaskuläre Durchblutungsstörung: TIA, Stroke
4. symptomatische Thrombose
5. Embolie
6. Tod

#### 3.4.1 Diagnosesicherung der primären Endpunkte

##### Akutes Koronarsyndrom (ACS)

Das ACS umfasste die instabile Angina pectoris (AP), das heißt jede neu aufgetretenen oder exazerbierten pectanginösen Beschwerden, den akuten Myokardinfarkt (STEMI, NSTEMI) sowie den plötzlichen Herztod.

Bei pectanginösen Beschwerden konnte es sich sowohl um das Erstereignis eines thorakalen Engegefühls, als auch um die akute Verschlechterung einer vorbestehend stabilen AP (in Form von Beschwerden in Ruhe oder Zunahme der Intensität, Dauer und Häufigkeit der Symptomatik sowie die Notwendigkeit vermehrter Mengen antianginöser

Therapien) handeln. Dabei musste die Schmerzdauer mindestens 30 Minuten betragen. Die Herzenzyme zeigten jedoch keine infarkttypische Dynamik und elektrokardiographisch ergaben sich keine akuten Ischämiezeichen.

Die Diagnose des akuten Myokardinfarktes war bei Anzeichen einer Myokardnekrose in Verbindung mit klinischen Zeichen der Myokardischämie zu stellen [Thygesen et al. 2012]. Diese gehen immer mit einer signifikanten Dynamik kardialer Biomarker in Verbindung mit Symptomen der Myokardischämie, neuen Erregungsrückbildungsstörungen, neu aufgetretenem Schenkelblock, Ausbildung von pathologischen Q-Zacken, echokardiographischer Darstellung von neuen Wandbewegungsstörungen oder Vitalitätsverlust sowie dem Nachweis intrakoronarer Thromben in der Koronarangiographie oder Autopsie einher. Der ST-Streckenhebungsinfarkt (STEMI) wurde hierbei von einem Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt (NSTEMI) elektrokardiographisch unterschieden. Bei einem STEMI sind ST-Streckenhebungen in zwei aufeinanderfolgenden Ableitungen obligat. In den Ableitungen I, II, III, aVR, aVF, aVL, V1, V3-V6 sind bereits  $\geq 0,1$  mV zur Diagnosesicherung ausreichend. Für V2-V3 dienen alters- und geschlechterabhängige Sonderregelungen:  $\geq 0,25$  bei Männern unter 40 Jahren und  $\geq 0,2$  bei Männern über 40 Jahren sowie  $\geq 0,15$  bei Frauen.

#### Dekompensierte Herzinsuffizienz

Hierbei ist primär die linksventrikuläre Dekompensation gemeint, welche mit klinisch imponierender Dyspnoe, ggf. auskultierbaren Rasselgeräuschen über den Lungenfeldern sowie radiologischem Nachweis eines Lungenödems und/oder Notwendigkeit einer diuretischen und/oder inotropiesteigernden Medikation einherging.

#### Zerebrovaskuläre Durchblutungsstörung

Der ischämische Schlaganfall imponiert durch fokal oder global neurologische Defizite, welche mindestens 24 Stunden anhalten und unter Umständen zum Tode führen können. Die Diagnose musste entweder mittels kranialer Computertomographie (cCT), Magnetresonanztomographie (cMRT) oder angiographisch gesichert werden.

Ebenfalls zu den zerebrovaskulären Durchblutungsstörungen zählte die transitorisch ischämische Attacke (TIA), welche als Vorbote eines Schlaganfalls mit ähnlichen Symptomen einherging, jedoch maximal 24 Stunden anhielt und sich komplett zurückbildete.

### Tiefe Beinvenenthrombose

Bei klinischem Verdacht konnte mittels Sonographie bei fehlender Venenkompressibilität und/oder typischen Flussprofilen sowie sichtbaren Thrombus die Diagnose einer tiefen Beinvenenthrombose gestellt werden.

### Lungenarterienembolie

Im Rahmen einer rasch aufgetretenen Dyspnoe, ggf. zusätzlicher Jugularvenenstauung sowie erhöhten D-Dimeren wurde mittels Spiral-Computertomographie oder der Ventilations-Perfusionsszintigraphie eine Lungenarterienembolie gesichert.

### Tod

Der Tod sowie dessen Ursache wurden mit Hilfe der Todesbescheinigung festgestellt.

## **3.5 Probenaufbereitungen**

Alle EDTA-Monovetten für die Bestimmung der plasmatischen ADMA- und L-Arginin-Konzentration (insgesamt 4 pro Studienteilnehmer) sind nach Entnahme schnellstmöglich ins Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie gebracht und 20 min. bei 4°C und 2000 rpm zentrifugiert worden. Dies führte zu einer Auftrennung von Plasma und Blutkuchen. Es wurden pro Monovette zwei Mal jeweils ein Milliliter des von den zellulären Bestandteilen des Blutes getrennte Plasma in mit der Patienten-ID versehenen Eppendorf-Tubes gefüllt und bei -20°C für die Bestimmung des ADMA- bzw. L-Arginin-Plasmaspiegels ohne Auftauzyklen zwischengelagert. Der restliche Überstand wurde abpipettiert und verworfen. Von den zellulären Bestandteilen wurden für DNA-Isolierungen ca. 1,5 ml pro Entnahme in die Tubes gefüllt und bei -80°C gelagert.

Da L-Arginin schnell durch vorhandene Enzyme im Blut abgebaut wird, wurde um eventuelle Verzögerungen in der Abnahme der Blutproben und ihrer Aufbereitung auszugleichen den Probenröhrchen vor Benutzung ein Arginasehemmstoff beigefügt.

### 3.6 Messungen der ADMA- Plasmakonzentration

Für die Bestimmung der ADMA- und L-Arginin- Plasmakonzentration wurde im Rahmen der Studie die Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) verwendet. Bei dieser Methode werden die Analyte chromatographisch in spezifische Fragmentierungsmuster aufgetrennt und mittels Massenspektrometrie identifiziert sowie quantifiziert [Schwedhelm et al. 2007b]. Die Kopplung der Flüssigkeitschromatographie und der Massenspektrometrie erlaubt dabei neben der Quantifizierung von reinen Substanzen auch die von Stoffgemischen, sodass sowohl symmetrische, als auch asymmetrische Dimethylarginine (SDMA und ADMA) durch ihre unterschiedlichen Massenübergänge quantifiziert werden können. Die Analyse der Proben erfolgte dabei nach den institutsinternen Standards, die hier im Folgenden erläutert werden.

Zur Vorbereitung der Messungen wurde eine 96-Well-Filterplatte positioniert über einer 96-Well-Polypropylenplatte, verwendet. Die Filterplatte wurde mittels 100 µL einer methanolhaltigen Lösung des internen Standards (2 µmol/L [2H6]-ADMA und 50 µmol/L L-[2H7]-Arginin) beschichtet. Nach der Zugabe von je 25 µL Kalibrierlösung sowie einer Plasma- bzw. Qualitätskontrollprobe stand die Platte bei Raumtemperatur 15 min. bei 3000 Umdrehungen auf einem Orbital-Schüttler. Anschließend wurden die Proben bei 4° Celsius, 2000 rpm 10 min. lang zentrifugiert, sodass sich das gesamte Eluat in der Polypropylenplatte sammelte. Die Filterplatte konnte nun verworfen werden, wohingegen die Polypropylenplatte auf einem Thermoblock bei 80° Celsius platziert worden ist, bis die enthaltene Flüssigkeit vollständig verdampft war. Auf die nun auskristallisierten Proben wurde je 100 µL einer buthanolischen Salzsäurelösung unter dem Abzug pipettiert, da die Proben und ihre Standards nur als Buthylester gemessen werden können. Die Platte wurde zur Derivatisierung abgedeckt und erneut auf dem Heizblock bei 65° Celsius für 30 min. gestellt. Anschließend wurde die buthanolische Salzsäure bei 80°C unter dem Abzug verdampft. Die Polypropylenplatte wurde dann bis zu den Messungen erneut bei -20° Celsius zwischengelagert.

Für die LC-MS/MS Methode jedoch mussten die Platten Raumtemperatur haben und zusätzlich mit 100 µl eines Probenpuffers aus Methanol, destilliertem Wasser (50/50 v/v, pH 5) versehen werden. Damit sich die gesammelten Analyte lösen können, wurde die Platte mit einer Acetat-Klebefolie abgedeckt und 30 min. bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach einer weiteren Filtration durch eine Multi Screen 96-Well-Platte 10 min. bei 2000 rpm konnte nun mit den Messungen begonnen werden.

Dafür wurden 10 µL der Proben injiziert, welche mit Hilfe einer Varian ProStar HPLC Pumpe gekoppelt an ein Varian 1200 L Triple Quadrupole Massenspektrometer unter

Verwendung einer Polaris C18-Ether-Trennsäule typische Fragmente erzeugen und somit L-Arginin und ADMA quantifizieren kann.

Die Auswertung der Messung erfolgte mithilfe der zugehörigen Varian Computer-Software.

### **3.7 Statistische Analysen**

Alle statistischen Analysen wurden mithilfe der SPSS (version 21; IBM Corporation, Armonk, NY, USA) durchgeführt. Die Daten werden als Median mit der 25. und 75. Perzentile oder als Durchschnittswert mit entsprechender Standardabweichung dargestellt.

Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden unter Verwendung des "Mann-Whitney U test" auf Signifikanz getestet.

Mithilfe der univariaten Regressionsanalyse wurden die Odds Ratio mit 95% Konfidenzintervall (95% CI) in Bezug auf das Auftreten des kombinierten Endpunktes als abhängige Variable ermittelt.

Bei allen Tests wurde ein  $p < 0.05$  als signifikant gewertet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Patientenkollektiv

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss einer präoperativen, oralen L-Arginin-/L-Citrullin-Substitution auf das perioperative Risiko bei nicht kardiochirurgischen Eingriffen untersucht. Entsprechend der Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Abschnitt 3.2.) wurden die Patienten in die Studie aufgenommen und in die Placebo- oder die Verumgruppe randomisiert. In der vorliegenden Studie wurden 269 Patienten zwischen 30 und 75 Jahren eingeschlossen.

#### 4.1.1 Baseline-Charakteristika der Patienten

Das mittlere Patientenalter lag bei  $56,7 \pm 11,3$  Jahren. Bei Einschluss in die Studie zeigte sich, dass mehr Männer in die Verumgruppe randomisiert wurden [83 (58,5%) vs. 53 (41,7%);  $p < 0,01$ ]. Darüber hinaus ergaben sich bezüglich der demographischen Variablen sowie der erhobenen Vorerkrankungen und Vormedikation keine Unterschiede zwischen den Patienten der Verum- und der Placebogruppe (Tabelle 1).

Tabelle 1: Baseline-Charakteristika

	Alle (n = 269)		Verum (n = 142)		Placebo (n = 127)	
<b>Demographische Daten</b>						
Alter, y, mean $\pm$ SD	56,74 $\pm$ 11,28		57,18 $\pm$ 11,07		56,25 $\pm$ 11,54	
BMI, mean $\pm$ SD	28,32 $\pm$ 8,43		28,58 $\pm$ 9,06		28,03 $\pm$ 7,68	
Männer, n (%)	136	(50,6)	83	(58,5)	53	(41,7) **
<b>Risikofaktoren, n (%)</b>						
Arterielle Hypertonie	120	(44,6)	59	(41,5)	61	(48,0)
Diabetes mellitus	42	(15,6)	21	(14,8)	21	(16,5)
Nierenversagen	9	(3,3)	2	(1,4)	7	(5,5)
Raucher	78	(29,0)	40	(28,2)	28	(29,9)
KHK	23	(8,6)	14	(9,9)	9	(7,1)
Myokardinfarkt	12	(4)	6	(4,2)	6	(4,7)
Dyslipidämie	46	(17,1)	24	(16,9)	22	(17,3)
Arrhythmien	36	(13)	15	(10,6)	21	(16,5)

**Medikation, n (%)**

Angiotensin II Blocker	31	(11,5)	16	(11,3)	15	(11,8)
Beta-Blocker	61	(23)	30	(21,1)	31	(24,4)
Diuretika	50	(18,6)	27	(19,0)	23	(18,1)
Calciumkanalblocker	18	(6,7)	8	(5,6)	10	(7,9)
Statine	30	(11,2)	16	(11,3)	14	(11,0)
Plättchenaggregationshemmer	40	(14,9)	20	(14,1)	20	(15,7)
Insulin	14	(25,6)	11	(7,7)	4	(3,1)

**Tabelle 1:** In dieser Tabelle zusammengefasst sind die Baseline-Charakteristika, inklusive der demographischen Daten sowie vorbestehende allgemeine kardiovaskuläre Risikofaktoren und Vorerkrankungen. Unterschiede zwischen der Verum- und Placebogruppe wurden unter Verwendung des t-Test oder des chi-quadrat-Test ermittelt.  $p < 0,05$ ,  $**p < 0,005$

**4.1.2 Laborchemische Marker**

Die zu vergleichenden Gruppen betrachtend ergaben die laborchemischen Analysen bezüglich der Nierenfunktion, quantifiziert anhand der Kreatininkonzentration, der gemessenen Gerinnungswerte, der Entzündungsparameter sowie der Hämoglobinkonzentration keine statistisch relevanten Unterschiede (Tabelle 2).

**Tabelle 2: Laborchemische Parameter**

	Alle (n = 269)		L-Arginin (n = 142)		Placebo (n = 127)	
Baseline	0,61	[0,54 ; 0,68]	0,61	[0,53 ; 0,69]	0,61	[0,54 ; 0,67]
Kreatinin (mg/dl)	0,90	[0,79 ; 1,10]	0,90	[0,80 ; 1,10]	0,90	[0,75 ; 1,10]
INR	0,98	[0,95 ; 1,03]	0,99	[0,95 ; 1,09]	0,98	[0,95 ; 1,07]
CRP (mg/L)	0,01	[0,01 ; 10,00]	0,01	[0,01 ; 8,00]	0,01	[0,01 ; 11,00]
Hämoglobin (g/dl)	13,60	[12,20 ; 14,40]	13,70	[12,45 ; 15,60]	13,50	[11,83 ; 14,28]

**Tabelle 2:** Die Daten wurden als Median [25. und 75. Perzentile] dargestellt. Die Unterschiede zwischen der L-Arginin- und Placebogruppe wurden unter Verwendung des "Mann-Whitney U test" ermittelt. \* $P < .05$ , \*\* $P < .005$

### 4.1.3 Traditionelle präoperative Risiko-Scores

Für die vorliegende Studie wurde der präoperative ASA-Score durch den Cardiac Risk Index nach Lee (RCRI) sowie durch die Bestimmung des operationsspezifischen kardialen Risikos ergänzt. Das perioperative Risiko, anhand dieser 3 Risikoevaluationssysteme erhoben, wurde für beide Studienarme gleich eingeschätzt (Tabelle 3).

**Tabelle 3: traditionelle präoperative Risiko-Scores**

	Alle (n = 269)	L-Arginin (n = 142)	Placebo (n = 127)
ASA Score 2/3/4	133/128/8 (49,4/47,6/3,0)	70/69/3 (49,3/48,6/2,1)	63/59/5 (49,6/46,5/3,9)
RCRI 0/1/2/3/4	34/189/38/7/1 (12,6/70,3/14,1/2,6/0,4)	15/102/19/6 (10,6/71,8/13,4/4,2)	19/87/19/1/1 (15/68,5/15/0,8/0,8)
OP Risiko 1 / 2	79/190 (29,4/70,6)	130/12 (91,5/8,5)	48/79 (37,8/62,2)

**Tabelle 3:** Die Unterschiede zwischen der L-Arginin- und der Placebogruppe wurden unter der Verwendung des "Kruskal Wallis U test" (ASA Score, RCRI), bzw. „Mann–Whitney U test“ (OP Risiko) bestimmt. \*P < ,05; \*\*P < ,005.

## 4.2 Verläufe der Plasmakonzentrationen

### 4.2.1 ADMA- und L-Arginin-Konzentration bei Einschluss in die Studie

Im Hinblick auf das Gesamtkollektiv zeigte sich bei Studieneinschluss eine plasmatische ADMA-Konzentration von 0,61 [0,54; 0,68]  $\mu\text{mol/l}$  und eine L-Arginin-Konzentration von 59,50 [44,95; 80,20]  $\mu\text{mol/l}$ . Damit lagen diese Werte, verglichen mit gesunden Kontrollkohorten, im Bereich bereits publizierter Konzentrationen [Schwedhelm et al. 2009; Lüneburg et al. 2011].

Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten der Verum- und Placebogruppe hinsichtlich ihrer ADMA-Konzentration (0,61  $\mu\text{mol/l}$  [0,53; 0,69] vs. 0,61  $\mu\text{mol/l}$  [0,54; 0,67]), der L-Arginin-Konzentration (58,40  $\mu\text{mol/l}$  [46,68; 79,05] vs. 62,00 [44,20; 81,00]) sowie der L-Arginin/ADMA-Ratio (96,50 [72,75; 132,00] vs. 98,00 [74,00; 131,00]) bei Einschluss in die Studie aufgezeigt werden (Tabelle 4).

### 4.2.2 L-Arginin

In der Interventionsgruppe kam es vom Einschluss in die Studie (Baseline) bis zum Tag der Operation zu einem Anstieg der L-Arginin-Plasmakonzentration, der jedoch knapp das Signifikanzniveau verfehlte (58,40 [46,68; 79,05] vs. 69,40 [51,48; 89,39];  $p = 0,05$ ). Dahingegen kam es in der Placebogruppe in diesem Zeitraum zu einem deutlichen Abfall der L-Arginin-Konzentration (62,00 [44,20; 81,00] vs. 56,90 [41,60; 70,80];  $p = 0,02$ ), sodass ein signifikanter Unterschied der L-Arginin-Konzentration am Operationstag vorlag ( $p < 0,005$ ). Nach Beendigung der L-Arginin-/L-Citrullin-Supplementierung konnte dieser Unterschied nicht mehr detektiert werden. Bereits am 1. postoperativen Tag zeigten sich die L-Arginin-Konzentrationen erneut ohne signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (46,30 [35,60; 59,10] vs. 47,10 [35,28; 58,38]). Am dritten postoperativen Tag erreichte die L-Arginin-Konzentration des Gesamtkollektives erneut das Ausgangsniveau (59,50 [44,95; 80,20] vs. 57,40 [43,10; 73,65]) (Abbildung 6).

**Tabelle 4 : Verläufe der ADMA- und L-Arginin-Konzentration und L-Arginin/ADMA-Ratio**

	L-Arginin (n = 142)		Placebo (n = 127)	
<b>ADMA (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>				
Baseline	0,61	[0,53 ; 0,69]	0,61	[0,54 ; 0,67]
OP-Tag	0,67	[0,59 ; 0,76]	0,68	[0,60 ; 0,77]
1. post-OP-Tag	0,54	[0,47 ; 0,64]	0,54	[0,48 ; 0,61]
3. post-OP-Tag	0,58	[0,49 ; 0,68]	0,57	[0,48 ; 0,67]
<b>L-Arginin (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>				
Baseline	58,40	[46,68 ; 79,05]	62,00	[44,20 ; 81,00]
OP-Tag	69,40	[51,48 ; 89,30] **	56,90	[41,60 ; 70,80] **
1. post-OP-Tag	46,30	[35,60 ; 59,10]	47,10	[35,28 ; 58,38]
3. post-OP-Tag	57,40	[43,65 ; 76,30]	57,35	[42,88 ; 73,43]
<b>L-Arginin/ADMA Ratio</b>				
Baseline	96,50	[72,75 ; 132,00]	98,00	[74,00 ; 131,00]
OP-Tag	105,82	[75,37 ; 138,69] **	82,32	[65,69 ; 110,23] **
1. post-OP-Tag	88,00	[64,00 ; 110,00]	85,00	[65,50 ; 110,75]
3. post-OP-Tag	98,00	[72,00 ; 125,00]	103,50	[77,50 ; 123,00]

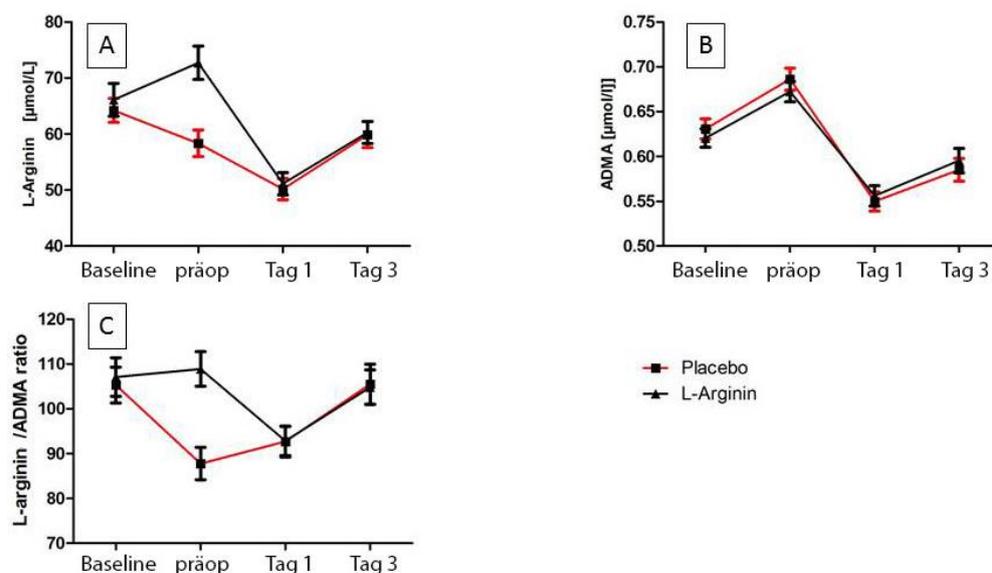
**Tabelle 4:** Verläufe der ADMA- und L-Arginin-Konzentration sowie der L-Arginin/ADMA-Ratio. Die Daten werden als Median [25. und 75. Perzentile] angegeben. Die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden unter Verwendung des "Mann-Whitney U test". \* $P < ,05$ ; \*\* $P < ,005$

### 4.2.3 ADMA

Im Gesamtkollektiv kam es vom Einschluss in die Studie bis zum Operationstag zu einem signifikanten Anstieg der ADMA-Konzentration (0,61 [0,54; 0,68]  $\mu\text{mol/l}$  vs. 0,68 [0,59; 0,76]  $\mu\text{mol/l}$ ;  $p < 0,001$ ). Die Änderungen der ADMA-Plasmakonzentrationen über den Studienzeitraum verliefen in der Placebo- sowie Verumgruppe kongruent, sodass zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen nachgewiesen werden konnte (Abbildung 6). Nach der Operation konnte am 1. postoperativen Tag ein Abfall der ADMA-Konzentration unter den Baseline-Wert gemessen werden (0,68 [0,59; 0,76]  $\mu\text{mol/l}$  vs. 0,54 [0,47; 0,62]  $\mu\text{mol/l}$ ;  $p < 0,001$ ). Am 3. postoperativen Tag hatte die plasmatische ADMA-Konzentration wieder ihr Ausgangsniveau erreicht (0,61 [0,54; 0,68]  $\mu\text{mol/l}$  vs. 0,57 [0,49; 0,68]  $\mu\text{mol/l}$ ) (Tabelle 4).

### 4.2.4 L-Arginin/ADMA-Ratio

Bei Einschluss in die Studie zeigten sich im Gesamtkollektiv eine L-Arginin/ADMA-Ratio von 98 [73,00; 131,50]. Bis zum dem OP-Tag kam es in der Placebogruppe zu einem signifikanten Abfall der L-Arginin/ADMA-Ratio (98 [74,00; 131,00] vs. 82,32 [65,69; 110,23];  $p=0,003$ ), wohingegen sich die Ratio in der Verumgruppe stabil zeigte (96,50 [72,75; 132,00] vs. 105,82 [75,37; 138,69];  $p = \text{n.s.}$ ). Daraus resultierte ein signifikanter Unterschied der L-Arginin/ADMA-Ratio zwischen den beiden Gruppen am Tag der Operation. Dieser Unterschied war bereits am ersten postoperativen Tag sowie im weiteren Studienverlauf nicht mehr nachweisbar (Abbildung 6).



**Abbildung 6:** Graphische Darstellung der Verläufe der L-Arginin- (A) und ADMA-Konzentration (B) sowie L-Arginin/ADMA-Ratio (C).

### 4.3 Perioperative Komplikationen

23 Patienten der vorliegenden Studie erreichten den primär kombinierten Endpunkt (Tabelle 5). Bei diesen Patienten zeigten sich im Vergleich zu jenen ohne einen erzielten Endpunkt keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der laborchemischen Analysen (mit Ausnahme des CRP) sowie der Einteilung in die ASA- bzw. RCRI-Klassifikation. Alle Patienten, die den Endpunkt erreichten, waren zuvor als RCRI < 3 eingestuft worden. Patienten, die den Endpunkt erreichten, unterzogen sich prozentual häufiger einer Operation, die als Hochrisikoeingriff klassifiziert wurde (22 [95,7%] vs. 1 [4,3%];  $p = 0,13$ ).

Nebenbefundlich führte das Erreichen des primären Endpunktes zu einem signifikant längeren Krankenhausaufenthalt verglichen zu Patienten ohne Komplikation ( $12,94 \pm 12,45$  Tage vs.  $21,04 \pm 13,03$  Tage;  $p = 0,003$ ).

Tabelle 5: Inzidenz der primären Endpunkte

Primärer Endpunkt	Anzahl
Tod	2
Myokardinfarkt	1
Thrombembolie	15
Angina pectoris	3
Dekompensierte Herzinsuffizienz	2

**Tabelle 5:** Inzidenz der primären Endpunkte

### 4.4 ADMA und die L-Arginin/ADMA-Ratio als neue Risikomarker

Da die pathogene Wirkung des asymmetrischen Dimethylarginins konzentrationsabhängig ist, erfolgte anhand des Medians eine Dichotomisierung in einen hohen und einen niedrigen ADMA-Bereich. Der am Operationstag ermittelte Median im Gesamtkollektiv der vorliegenden Studie befand sich bei  $0,68 \mu\text{mol/l}$  und somit im Bereich bereits publizierter Konzentrationen [Schnabel et al. 2005].

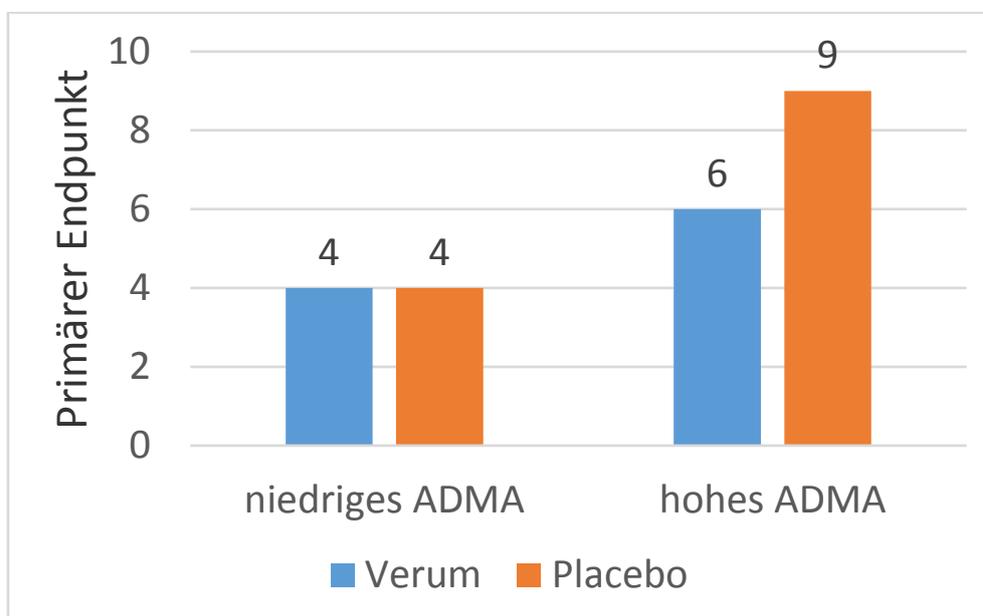
Dabei zeigte sich, dass Patienten im hohen ADMA-Bereich den Endpunkt signifikant häufiger erreichten, als Patienten im niedrigen ADMA-Bereich unabhängig ihrer Randomisierung (15 [65%] versus 8 [35%]; OR 2.52, 95% CI 1.03 – 6.16,  $p = 0.04$ ). Das unterstreicht die Bedeutung der ADMA-Plasmakonzentration als perioperativen Risikomarker (Abbildung 7).

Hinsichtlich der randomisierten Gruppen erlitten prozentual weniger Patienten nach L-Arginin-Supplementierung den primären Endpunkt als in der Placebogruppe (6 [40%]

versus 9 [60%];  $p=0,37$ ); dieses Ergebnis erreichte jedoch nicht das Signifikanzniveau. Im niedrigen ADMA Bereich zeigten sich identisch viele Endpunkte in der Placebo- wie in der Verumgruppe (Abbildung 7).

Die Entwicklung der L-Arginin/ADMA-Ratio über den gesamten Studienverlauf zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten, die eine Komplikation erlitten und Patienten ohne Endpunkt ( $4,9 \pm 59,8\%$  vs.  $12,3 \pm 106,9\%$ ;  $p = 0,63$ ). Patienten mit einer erniedrigten L-Arginin/ADMA-Ratio, definiert als eine Ratio unterhalb des Median von 92,31 erlitten ebenfalls nicht häufiger den Endpunkt als Patienten mit einer über dem Median gelegenen L-Arginin/ADMA-Ratio (11 [47,8 %] vs. 12 [52,2 %],  $p = 0,84$ ).

35 Patienten der Studie zeigten eine L-Arginin/ADMA-Ratio von mindestens 150. Dies ist laut Vorstudien mit einem niedrigen kardiovaskulären Risiko assoziiert [Böger et al. 2009]. 75% dieser Patienten ( $n = 26$ ) befanden sich in der Verumgruppe und erhielten das L-Arginin/L-Citrullin-Präparat. Da in unserem Gesamtkollektiv im Vergleich eine deutlich niedrigere L-Arginin/ADMA-Ratio vorlag, führten wir eine erneute Berechnung mit einer Dichotomisierung in einen niedrigen und einen hohen L-Arginin/ADMA-Ratio-Bereich mit einem Cut-Off Wert von 150 durch. Patienten im hohen L-Arginin/ADMA-Ratio-Bereich erlitten prozentual seltener eine Komplikation, wobei das Signifikanzniveau knapp verpasst wurde (6 [26,1 %] vs. 17 [73,9 %],  $p = 0,05$ ).



**Abbildung 7:** Vergleich der primär erreichten Endpunkte in der Placebo- versus Verumgruppe

## 5 Diskussion

Die Kernaussage der vorliegenden Studie ist, dass die ADMA-Plasmakonzentration als Risikomarker für das Auftreten perioperativer Komplikationen verifiziert werden konnte. Die Supplementierung mit L-Arginin hingegen führte zwar zu einer Erhöhung der L-Arginin/ADMA-Ratio, hatte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf das Outcome der Patienten.

### 5.1 ADMA als kardiovaskulärer Risikomarker

Die Bedeutung der ADMA-Plasmakonzentration als kardiovaskulärer Risikofaktor konnte mittlerweile in diversen prospektiven Studien, u.a. „Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study“ und der AtheroGene-Studie, belegt werden. ADMA konnte dabei als ein unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse und Tod herausgestellt werden [Schnabel et al. 2005; Meinitzer et al. 2007].

In diversen Studien zeigte sich bei einer plasmatischen ADMA-Konzentration von mindestens 0,6  $\mu\text{mol/l}$  eine erhöhte Inzidenz an einem akuten kardiovaskulären Ereignis zu erkranken und/oder zu versterben [Valkonen et al. 2001]. 2007 konnten Maas et al. die präoperative ADMA-Plasmakonzentration als unabhängigen, präoperativen Risikofaktor identifizieren und so bereits etablierte perioperative Risikoevaluationssysteme komplementieren [Maas et al. 2007]. Die Ergebnisse dieser Vorstudie in Bezug auf die Risikostratifizierung konnten unter Verwendung der intraoperativ vorliegenden ADMA-Plasmakonzentrationen, nicht jedoch hinsichtlich der präoperativen Werte, reproduziert werden. Die plasmatische ADMA-Konzentration als Risikofaktor für die Vorhersage postoperativer Komplikationen erreichte, trotz geringerer Anzahl der Studienteilnehmer (402 vs. 269) sowie des im Vergleich zur Vorstudie geringeren Auftretens eines primär kombinierten Endpunktes (~12% vs. 8,5%), das Signifikanzniveau. Der am OP-Tag ermittelte Median der ADMA-Plasmakonzentration im Gesamtkollektiv lag bei 0,68  $\mu\text{mol/l}$ . Unter Verwendung des Medians erfolgte die Dichotomisierung in einen niedrigen und einen hohen ADMA-Bereich. Im Bereich hoher ADMA-Konzentrationen traten signifikant mehr Komplikationen auf, als im Bereich niedriger plasmatischer ADMA-Konzentrationen ( $p=0,04$ ). Dieses Ergebnis ist kongruent mit diversen Studien, welche eine über dem Median und/oder über der 3. Perzentile gelegenen ADMA-Plasmakonzentration mit dem vermehrten Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse assoziieren konnten [Schnabel et al. 2005; Maas et al. 2007, Böger et al. 2011]. Darüber hinaus konnte die Wertigkeit einer perioperativ erhöhten ADMA-

Konzentration, hier definiert über einen Median-Split von 0,68  $\mu\text{mol/l}$ , als prognostisch ausschlaggebender Faktor herausgestellt werden.

Die Bedeutung des asymmetrischen Dimethylarginins als perioperativer Risikomarker konnte seither in diversen anderen Studienpopulationen bestätigt werden, so zum Beispiel in einer Studie mit 158 Patienten, die einen Koronararterien-Bypass erhielten. Auch hier war die präoperative ADMA-Plasmakonzentration signifikant mit dem Auftreten eines postoperativen Myokardinfarktes sowie einer frühen perioperativen Mortalität assoziiert [Plicner et al. 2014].

Bis heute haben anerkannte pharmakologische Therapien zur kardiovaskulären Risikoreduktion zu unbefriedigenden Ergebnissen hinsichtlich der Senkung der ADMA-Plasmakonzentration geführt. Sowohl antihypertensive Medikamente wie ACE-Hemmer oder AT-1-Rezeptorblocker, als auch orale Antidiabetika, wie Metformin konnten die Konzentration des NO-Synthase-Inhibitors maximal moderat reduzieren [Delles et al. 2002; Asagami et al. 2002]. Eine Monotherapie mit Statinen hatte in der Mehrzahl der Studien keinen signifikant senkenden Einfluss auf die ADMA-Plasmakonzentration [Valkonen et al. 2003; Eid et al. 2003]. Im Gegenzug konnte eine hohe plasmatische Konzentration des asymmetrischen Dimethylarginins mit dem Ausbleiben positiver Effekte einer Statintherapie auf die endothelabhängige Vasodilatation in Zusammenhang gebracht werden [Janatuinen et al. 2003].

Jedoch können die inhibitorischen Effekte von ADMA auf die endotheliale NO-Synthase durch die Erhöhung seines natürlichen Substrates, der Aminosäure L-Arginin, überwunden werden [Böger et al. 2007]. Mittels Erhöhung der L-Arginin-Plasmakonzentration konnte bereits in diversen Studien ein vasodilatierender Effekt, als Ausdruck einer Verbesserung der endothelialen Funktionsfähigkeit, erzielt werden [Clarkson et al. 1996; Bode-Böger et al. 2003; Piatti et al. 2003].

Diesen Überlegungen folgend wurde in der hier vorliegenden Studie der Einfluss einer präoperativen L-Arginin-Supplementierung auf das kardiovaskuläre Outcome von Patienten untersucht, welche sich einem elektiven, thorako- oder abdominellen (nicht kardiochirurgischen) Eingriff unterzogen.

## 5.2 Das Patientenkollektiv

Es konnten 269 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. In der Verumgruppe waren signifikant häufiger männliche Patienten vertreten [83 (58,4%) vs. 53 (41,7%),  $p < 0,01$ ]. Darüber hinaus konnte kein signifikanter Unterschied der in die Verum- versus Placebogruppe stratifizierten Patienten hinsichtlich ihrer demographischen Daten, ihrer Vorerkrankungen bzw. Vormedikation, laborchemischen Analysen sowie ihres perioperativen Risikos, quantifiziert anhand des ASA- und RCRI-Scores, nachgewiesen werden. Des Weiteren lagen sowohl die ADMA-, als auch die L-Arginin-Plasmakonzentrationen bei Studieneinschluss im Bereich bereits publizierter Konzentrationen, ohne signifikanten Unterschied in den Studienarmen, sodass insgesamt von einer guten Vergleichbarkeit auszugehen ist (Tabelle 1-4).

## 5.3 Verläufe der Plasmakonzentrationen

### 5.3.1 L-Arginin

Die in der vorliegenden Studie gemessenen plasmatischen L-Arginin-Konzentrationen zeigten bei Einschluss keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Studienarmen. Es ist jedoch erwähnenswert, dass die zu vergleichenden Gruppen durchschnittlich eher niedrige L-Arginin-Plasmakonzentrationen (jeweils  $61 \mu\text{mol/l}$ ) im Vergleich zu einem definierten Normbereich von  $60\text{-}140 \mu\text{mol/l}$  aufwiesen [Cynober et al. 2002]. In der Verumgruppe konnte keine signifikante L-Arginin-Aufsättigung nachgewiesen werden. Dahingegen kam es in der Placebogruppe am Tag der Operation zu einem deutlichen Abfall der L-Arginin-Konzentration im Vergleich zu den Baseline-Werten, sodass sich folglich ein signifikanter Unterschied zwischen den zu vergleichenden Gruppen am OP-Tag herausstellen ließ.

Der Konzentrationsabfall in der Placebogruppe könnte dadurch bedingt sein, dass die Patienten eine präoperative Nahrungskarenz einhalten mussten. L-Arginin, als semiessentielle Aminosäure, wird jedoch überwiegend über orale Nahrungsaufnahme dem Körper zugeführt, sodass es zu einem kurzfristigen Mangel gekommen sein mag. Eine weitere Hypothese zur verminderten L-Arginin-Konzentration am OP-Tag ist die Zunahme der Arginaseaktivität. Es ist bekannt, dass Traumata und Operationen zu einer überwiegenden Zellantwort der T-Helferzellen vom Typ 2 führen. Diese ziehen wiederum ihrerseits eine Erhöhung diverser Zytokine, wie z.B. der Interleukine IL-4, IL-10, und IL-13, nach sich. Diese Zytokine erhöhen die Produktion der Arginase, dem Abbauenzym

des L-Arginin, und führen damit zu einem verminderten L-Arginin-Angebot [Rodriguez et al. 2003; Bansal et al. 2003].

### 5.3.2 ADMA

Die ADMA-Plasmakonzentration lag ebenfalls im Bereich bereits veröffentlichter Konzentrationen. Betrachtet man, unabhängig der Randomisierungsgruppe, den Verlauf der plasmatischen ADMA-Konzentration über den Studienzeitraum hinweg, fällt auf, dass in beiden Gruppen am Operationstag ein signifikanter Anstieg der ADMA-Konzentration gegenüber den Ausgangswerten ermittelt wurde. Bereits am ersten postoperativen Tag lag die gemessene Plasmakonzentration in beiden Studienarmen deutlich unterhalb der Baseline-Werte. Am 3. postoperativen Tag glich die Konzentration wieder dem Ausgangsniveau (Abbildung 6B). Dieser biphasische Verlauf der ADMA-Plasmakonzentration wurde zuvor von Claes et al. nach Nierentransplantationen beschrieben [Claes et al. 2014]. Die präsentierte Studie jedoch berichtet als erste über den Verlauf der ADMA-Plasmakonzentration während der perioperativen Phase elektiver, nicht kardiochirurgischer Patienten.

Die Ursachen der postoperativ erhöhten ADMA-Plasmakonzentration sind noch weitestgehend ungeklärt. Eine mögliche Hypothese könnte eine erhöhte Aktivität und/oder Expression des für die Bildung von ADMA verantwortlichen Enzyms, der Protein-Arginin-N-Methyltransferase 1 (PRMT 1), sein [McBride et al. 2001]. Eine weitere Möglichkeit besteht in einem reduzierten Abbau des Dimethylarginins. ADMA wird hauptsächlich metabolisch über die NG, NG-Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) abgebaut [MacAllister et al. 1996]. Insbesondere erhöhte plasmatische Konzentrationen von Homozystein sowie oxidiertem LDL-Cholesterin reduzieren die Aktivität der DDAH [Ito et al. 1999; Stühlinger et al. 2001]. Des Weiteren kommt es im Rahmen einer katabolen Stoffwechsellage als Ausdruck einer metabolischen Stressreaktion sowie nach großen körperlichen Traumata bei kritisch kranken Patienten zu einer Hyperglykämie [Wolfe et al. 2000]. Diese beeinträchtigt ebenfalls die Aktivität der DDAH und führt somit zu erhöhten ADMA-Plasmakonzentrationen [Lin et al. 2002]. Konsensuell mit dieser Theorie zeigten Ellger et al. 2008, dass bei intensivpflichtigen Patienten durch die Erhaltung einer normoglykämischen Stoffwechsellage mittels Insulinsubstitution die plasmatische ADMA-Konzentration verringert sowie die Aktivität der DDAH aufrechterhalten werden kann [Ellger et al. 2008]. Darüber hinaus ist bekannt, dass oxidativer Stress, wie er bei größeren chirurgischen Eingriffen auftritt, die katalytische Aktivität der DDAH hemmt und konsekutiv zu einer erhöhten ADMA-

Plasmakonzentration führt [Leitner et al. 2011]. Da ADMA ein stabileres Produkt mit längerer Halbwertszeit als die Superoxidanionen ist und im peripheren Blut bestimmt wird, kann das asymmetrische Dimethylarginin als indirekter Indikator für oxidativen Stress gewertet werden [Schnabel und Blankenberg 2007].

Die Inhibition der DDAH geht erwiesenermaßen mit einer Vasokonstriktion einher, welche unter L-Arginin-Supplementierung reversibel ist [MacAllister et al. 1996]. Dennoch konnte herausgestellt werden, dass hohe L-Arginin-Konzentrationen dosisabhängig den Metabolismus von ADMA über Hemmung der Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH), dem Abbauenzym von ADMA, regulieren und somit die ADMA-Plasmakonzentration erhöhen [Wang et al. 2006]. Man könnte annehmen, dass dieser Effekt durch die orale Supplementierung mit L-Arginin erzielt wurde und somit signifikant weniger ADMA abgebaut werden konnte. In Vorstudien resultierte aus einer Supplementierung von 3,2 g/d jedoch keine erhöhte ADMA-Plasmakonzentration [Schwedhelm et al. 2007a]. In diversen weiteren Studien wurden bei deutlich höheren Dosierungen, einer intravenösen oder oralen Applikation von bis zu 15 g/d, keine signifikante Zunahme der ADMA-Plasmakonzentration beschrieben [Böger et al. 1998c; Walker et al. 2001]. Laut dem vorliegenden Studienprotokoll sind 6 g/d über maximal 5 Tage eingenommen worden. Zudem findet sich sowohl in der Verum-, als auch in der Placebogruppe ein signifikanter Anstieg der ADMA-Plasmakonzentration am Operationstag, sodass nicht von einer L-Arginin-induzierten Inhibition der DDAH auszugehen ist.

Eine weitere Möglichkeit besteht in einer reduzierten renalen Sekretion des asymmetrischen Dimethylarginins. Dieses wird neben dem metabolischen Abbau durch die DDAH zusätzlich in geringem Maße über den Urin ausgeschieden [McDermott et al. 1976]. Durch eine reduzierte renale Sekretion führen schwere chronische Nierenversagen nachweislich zu einer Erhöhung der ADMA-Plasmakonzentration [Vallance et al. 1992]. Daher sind in dem vorliegenden Patientenkollektiv keine Patienten mit einer fortgeschrittenen Niereninsuffizienz eingeschlossen worden (siehe Einschlusskriterien Punkt 3.2.1). Auch ergaben sich keine statistischen Zusammenhänge hinsichtlich eines perioperativen, akuten Nierenversagens.

Darüber hinaus werden im Rahmen großer Operationen und damit verbundenen Gewebeverletzung vermehrt Dimethylarginine durch den Abbau methylierter Proteine freigesetzt [D'Alecy et al. 2010; Davids et al. 2012]. Insbesondere bei großen abdominalen Eingriffen zu erwähnen ist, dass in vorangegangenen Studien ein signifikanter Abfall des Hämatokrit mit einem Anstieg der ADMA-Plasmakonzentration einherging [Claes et al. 2014]. Erythrozyten spielen eine große Rolle in der Speicherung

des ADMA, sodass im Rahmen einer ausgeprägten Hämolyse entsprechend große Mengen des asymmetrischen Dimethylarginin freigesetzt werden [D'Alecy et al. 2010].

### 5.3.3 L-Arginin/ADMA-Ratio

Die enzymatische Aktivität der endothelialen NO-Synthase wird unter anderem über die L-Arginin/ADMA-Ratio reguliert. Die L-Arginin/ADMA-Ratio konnte als unabhängiger Risikomarker für kardiovaskuläre Morbidität sowie die Gesamtmortalität in der Framingham Offspring Kohorte identifiziert werden [Böger et al. 2009].

Als Konsequenz der oben aufgeführten Verläufe der ADMA- und L-Arginin-Plasmakonzentrationen konnte ebenfalls ihre Ratio betrachtend am Operationstag ein signifikanter Unterschied zugunsten der Verumgruppe herausgestellt werden.

Daher lässt sich aus pathophysiologischen Vorstellungen heraus vermuten, dass in der Placebogruppe am Operationstag eine vergleichsweise reduzierte NO-Bioverfügbarkeit vorlag. Das Gesamtkollektiv betrachtend konnte im Hinblick auf das Auftreten eines primär kombinierten Endpunktes das Outcome der Patienten unter einer oralen Supplementierung mit L-Arginin nicht signifikant gegenüber der Placebogruppe verbessert werden. Man sollte jedoch berücksichtigen, dass im Gesamtkollektiv eine vergleichsweise niedrige L-Arginin/ADMA-Ratio im Median von 92,31 vorlag. Die Referenzwerte in der gesunden Bevölkerung liegt bei 74.3 (95% CI = 71.1-77.3) bis 225 (95% CI = 222-228)  $\mu\text{mol/l}$  [Lüneburg et al. 2011]. Laut Vorstudien geht eine Ratio von mindestens 150 mit einem reduzierten kardiovaskulären Risiko einher [Böger et al. 2009]. Lediglich 35 Patienten wiesen eine entsprechende L-Arginin/ADMA-Ratio auf. 75% dieser Subgruppe, das heißt 26 Patienten, waren in der Verumgruppe.

Anhand einer Dichotomisierung in einen niedrigen und hohen Ratio-Bereich mit einem Cut-off von 150 ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den randomisierten Gruppen zum Vorteil für die Verumgruppe, welche knapp das Signifikanzniveau verfehlten (6 [26,1 %] vs. 17 [73,9 %],  $p = 0,05$ ). Dieses Ergebnis lässt einen positiven Effekt einer perioperativen L-Arginin-Supplementierung postulieren. Dies sollte Gegenstand zukünftige Forschungsprojekte sein.

#### 5.4 Bedeutung der L-Arginin-Supplementierung

In der vorliegenden Studie erreichten 23 Patienten den primär kombinierten Endpunkt (Tabelle 5). Bezüglich einer über dem Median von 0,68  $\mu\text{mol/l}$  gelegenen ADMA-Plasmakonzentration zeigte sich ein häufigeres Auftreten des primär kombinierten Endpunktes in der Placebogruppe (9 [60%] vs. 6 [40%],  $p=0,37$ ), sodass auch hier eine Tendenz zugunsten der Verumgruppe zu sehen ist (Abbildung 7). Ein signifikantes Ergebnis konnte jedoch nicht erzielt werden.

Das kann mehrere Gründe haben; zum einen handelt es sich trotz der Verwendung eines primär kombinierten Endpunktes um eine relativ geringe Anzahl kardiovaskulärer Ereignisse. Es lässt sich nur mutmaßen, inwieweit eine höhere Inzidenz der Endpunkte das Ergebnis beeinflusst hätte. Schließlich war der signifikante Unterschied in der L-Arginin/ADMA-Ratio am OP-Tag bereits am ersten postoperativen Tag nicht mehr nachweisbar. Am dritten postoperativen Tag lagen die Konzentrationen wieder im Bereich der Ausgangswerte, sodass wahrscheinlich nicht mit einem persistierenden Einfluss der Studienmedikation auf die endotheliale Funktionsfähigkeit zu rechnen war. Lediglich ein Ereignis eines primär kombinierten Endpunktes konnte am Tag der Operation dokumentiert werden. Dennoch konnten in Vorstudien auch akute pharmakologische Effekte mittels parenteraler L-Arginin-Gabe sowohl bei Patienten mit Hypercholesterinämie, als auch gesunden Patienten erzielt werden [Creager et al. 1992; Bode-Böger et al. 1998]. Ein etwaiger Effekt ist jedoch mithilfe einer oralen L-Arginin-Supplementierung nicht unter 15 g/d zu erwarten [Böger 2007]. Zum anderen konnten Böger et al. zeigen, dass die Verbesserung der flussabhängigen Vasodilatation (FMD) als Äquivalent der endothelialen Funktion durchaus eine zeitabhängige Variable ist. Nach einer Woche einer intravenösen Gabe von 8 g/d L-Arginin zeigte sich eine 1-2%ige absolute Veränderung der FMD. Eine signifikante Verbesserung konnte nach dreiwöchiger Therapie erzielt werden [Böger et al. 1998c].

Dem entgegen stehen wiederum Studien, welche mittels oraler Nahrungsergänzung von 6 g L-Arginin pro Tag über 3 Tage eine signifikante Verbesserung der sportlichen Übungskapazität bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit erreichen konnten, sodass auch geringere Applikationszeiten einen positiven Effekt zu erzielen scheinen [Bednarz et al. 2000].

Ein weiterer wichtiger Punkt jedoch ist, dass in der vorliegenden Studie keine signifikante L-Arginin-Aufsättigung erfolgte. Bei nur 26 Patienten der Verumgruppe konnte eine L-Arginin/ADMA-Ratio von  $>150$  gemessen werden. Dieser Wert ist, wie bereits erwähnt, mit einem verminderten kardiovaskulären Risiko assoziiert und wäre dementsprechend

ein wünschenswertes Ergebnis gewesen [Böger et al. 2009]. Der signifikante Unterschied der L-Arginin/ADMA-Ratio in den zu vergleichenden Gruppen beruhte aber auf einem Anstieg der ADMA-Plasmakonzentration am Operationstag in beiden Gruppen sowie dem Abfall der L-Arginin-Konzentration in der Placebogruppe; in der Verumgruppe konnte die L-Arginin-Konzentration zu den Baselinewerten jedoch konstant gehalten werden. Vaskuläre Effekte des L-Arginin sind allerdings ebenfalls konzentrationsabhängig [Bode-Böger et al. 1998]. Die insuffiziente L-Arginin-Aufsättigung in diesem Falle liegt am ehesten in der kurzen Applikationsdauer begründet. Ein Großteil des Patientenkollektivs wurde ca. 1-2 Tage vor der elektiven Operation im Rahmen des anästhesiologischen Aufklärungsgesprächs für die Studie rekrutiert. Die Erhöhung der L-Arginin/ADMA-Ratio konnte nachweislich durch eine prolongierte L-Arginin-Supplementierung von einer Woche mit 3,2 g/d erreicht werden [Schwedhelm et al. 2007a]. Es bleibt offen, inwiefern sich eine verlängerte Supplementierungsphase bis beispielsweise einschließlich 7 Tage nach der Operation auf die postoperative Komplikationsrate ausgewirkt hätte.

Sicherlich erwähnenswert erscheint auch die Tatsache, dass in die Verumgruppe signifikant mehr männliche Patienten randomisiert wurden. Die Datenlage in Bezug auf eine geschlechterspezifische Therapie und Wirksamkeit einer L-Arginin-Substitution beim Menschen ist bisher mangelhaft. Eine 2018 in der Türkei veröffentlichte Studie untersuchte unter anderem die ADMA-Plasmakonzentration hinsichtlich sowohl alters-, als auch geschlechtsspezifischer Veränderungen im Laufe des Lebens von Ratten [Han et al. 2018]. Hierbei konnten signifikante Unterschiede in der plasmatischen ADMA-Konzentration zwischen männlichen und weiblichen Versuchstieren bezogen auf ihr Lebensalter herausgestellt werden. Es ist bereits bekannt, dass endotheliale Dysfunktion deutlich früher beim männlichen Geschlecht auftritt, sodass dieses selbst als kardiovaskulärer Risikofaktor gilt [Celermajer et al. 1994; Castelli 1984]. In der vorliegenden Studie zeigte sich indes keine Signifikanz hinsichtlich der ADMA-Plasmakonzentration in Bezug auf das Geschlecht und das Alter. Inwieweit eine orale Supplementierung mit L-Arginin geschlechtsspezifische Auswirkungen auf die L-Arginin-Plasmakonzentration sowie die L-Arginin/ADMA-Ratio hat, bleibt jedoch zu diesem Zeitpunkt offen und könnte Gegenstand zukünftiger Studien sein.

Darüber hinaus sollte die konventionell medikamentöse Therapie des Patienten berücksichtigt werden. Die bestehende Medikation kann ihrerseits einen positiven Effekt auf die vaskuläre Integrität haben und ggf. die ADMA-Plasmakonzentration reduzieren [Maas et al. 2005]. Es wird postuliert, dass Patienten in frühen Stadien atherosklerotischer Erkrankungen, in denen noch keine manifesten, strukturellen

Veränderungen vorliegen, primär von einer L-Arginin-Substitution profitieren. Bei bereits austherapierten Patienten mag eine additive L-Arginin-Supplementierung keinen weiteren nutzbringenden Effekt haben [Böger 2007].

Insgesamt lässt sich jedoch sagen, dass trotz der oben genannten Einschränkungen die L-Arginin-Konzentration zu präoperativen Werten stabil gehalten und somit die L-Arginin/ADMA-Ratio, als Determinante der NO-Synthase, im Vergleich zur Placebogruppe verbessert werden konnte.

Hinsichtlich der Patientengruppen, welche eine niedrige ADMA-Plasmakonzentration aufwiesen, zeigten sich keinerlei Unterschiede zwischen der Verum- sowie der Placebogruppe. Dieses Ergebnis unterstreicht die bereits bestehende Hypothese, dass eine orale L-Arginin-Supplementierung vor allem im Rahmen erhöhter plasmatischer ADMA-Konzentrationen wirksam ist [Hornig et al. 1998].

Bei normwertiger L-Arginin-Konzentrationen führt eine erhöhte plasmatische ADMA-Konzentration zu einem relativen L-Arginin-Defizit und somit einer gestörten L-Arginin/ADMA-Ratio. Der physiologische Status kann mittels L-Arginin-Substitution und somit Normalisierung der Ratio wiederhergestellt werden. Bei einer gesunden L-Arginin/ADMA-Ratio ist nicht mit dem Benefit einer L-Arginin-Supplementierung zu rechnen. Daher ist kein präventiver Effekt im niedrigen ADMA-Bereich der Verumgruppe zu erwarten gewesen.

#### **5.4.1 Weitere Endpunkt-Analysen**

Bei den 23 Patienten, welche einen primären Endpunkt erlitten, wurde prozentual häufiger eine Hochrisikoperation durchgeführt. Mit Ausnahme des CRP fanden sich in dieser Patientengruppe keine statistisch signifikanten Unterschiede in den laborchemischen Analysen sowie der Einteilung in die ASA- bzw. RCRI-Klassifikation. Jeder Patient dieser Subgruppe wurde präoperativ mit einem RCRI < 3 klassifiziert. Das entspricht den Resultaten der Vorstudie von Maaß et al., sodass die Ergebnisse auch hier reproduziert werden konnten. Das Erreichen eines primär kombinierten Endpunktes war ebenfalls signifikant mit einem längeren Krankenhaushalt assoziiert (12,94 ± 12,45 Tage vs. 21,04 ± 13,03 Tage; p = 0,003).

## 5.5 Limitationen

In Übereinstimmung mit vorangegangenen Studien wurde ein primär kombinierter Endpunkt gewählt [Maas et al. 2007]. Die Wahl eines singulären Endpunktes, wie z.B. dem Tod, hätte nicht realisierbar hohe Probandenzahlen gefordert. Dennoch handelt es sich im Vergleich mit entsprechenden Studien um eine deutlich niedrigere Rekrutierungszahl. Die Aussagekraft der Studie ist bei eingeschränkter Teststärke (Power) nur bedingt beurteilbar.

Die orale Einnahme des Prüfpräparates lag im Durchschnitt bei 18 g. Die hohe Variabilität und die überwiegend kurze Supplementierungsphase ist sicherlich eine der Hauptlimitationen der Studie. Eine Adaption dieses Mangels war im Zuge der Aufrechterhaltung des routinemäßigen Arbeitsablaufs in der Prämedikationsambulanz nicht möglich.

Das Auftreten primär kombinierter Endpunkte wurde, die postoperative Intensivpflege außen vor gelassen, zumeist klinisch beurteilt, sodass klinisch stumme Ereignisse, z.B. myokardiale Ischämien, nicht adäquat hätten erfasst werden können. Darüber hinaus zeigte sich eine geringe Inzidenz an primär kombinierten Endpunkten, welche die Auswertungen zusätzlich erschwerten.

Des Weiteren stützte sich die Datenerhebung nach der Entlassung des Probanden überwiegend auf die Angaben des Patienten ohne klinische Untersuchungsergebnisse oder sichere diagnostische Befunderhebung. Diese subjektiven Aussagen könnten fehlerbehaftet und folglich weniger präzise als die im Krankenhaus erhobenen Daten sein.

## 6 Zusammenfassung

Der Arbeitshypothese nach sollte durch die Steigerung der plasmatischen L-Arginin-Konzentration das ADMA-vermittelte perioperative Risiko kardiovaskulärer Komplikationen gesenkt werden. Darüber hinaus sollte die Bedeutung der ADMA-Plasmakonzentration als perioperativer Risikomarker, bei Patienten, die sich einer elektiven, nicht kardiochirurgischen Operation unterziehen, reevaluiert werden.

Es wurden insgesamt 269 Teilnehmer in die Studie aufgenommen und entsprechend der Randomisierung präoperativ für 1-5 Tage mit zweimal täglich 3 g eines L-Arginin/L-Citrullin-Kombipräparates bzw. Placebos per os behandelt. Bis 30 Tage nach dem chirurgischen Eingriff wurde das Auftreten des primären kombinierten Endpunkts (Tod, akutes Koronarsyndrom, dekompensierte Herzinsuffizienz, symptomatische Thrombose sowie pulmonale oder cerebrovaskuläre Embolie) dokumentiert.

Die Messungen der L-Arginin- und der ADMA-Plasmakonzentration erfolgten sowohl prä-, als auch intraoperativ sowie am ersten und dritten postoperativen Tag und wurden dann mittels LC-MS/MS bestimmt.

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Studie sind in erster Linie, dass elevierte ADMA-Plasmakonzentrationen das perioperative Risiko für kardiovaskuläre Komplikationen signifikant erhöhen. ADMA konnte darüber hinaus als Prädiktor solch unerwünschter Ereignisse verifiziert werden. Das Gesamtkollektiv betrachtend konnte jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied im Hinblick auf die Ereignisrate eines primär kombinierten Endpunktes zwischen den Studienarmen herausgestellt werden; am ehesten aufgrund mangelnder Teststärke. Dennoch konnte gezeigt werden, dass eine orale Supplementierung mit einem L-Arginin/L-Citrullin-Präparat die plasmatische L-Arginin/ADMA-Ratio erhöht, was diversen Studien zufolge zur Verringerung des kardiovaskulären Risikos und der Gesamtmortalität beiträgt. Daher kann man spekulieren, dass die Einnahme von L-Arginin/L-Citrullin über eine verlängerte perioperative Zeitspanne das ADMA-vermittelte kardiovaskuläre Risiko signifikant zu senken vermag. Das sollte Gegenstand zukünftiger Forschungsprojekte sein.

Aufgrund der multifaktoriellen Ätiologie kardiovaskulärer Morbiditäten und Mortalitäten ist jedoch nicht zu erwarten, dass eine einzige Maßnahme das perioperative kardiale Risiko bei nicht kardiochirurgischen Eingriffen absolut senken kann. Aber die Bestätigung, dass ADMA als präoperativer Risikoprädiktor therapeutisch beeinflussbar wäre, würde eine wesentliche diagnostische Lücke in der perioperativen Medizin schließen und das schon seit langem bestehende Ziel einer spezifischen risikopräventiven Therapie chirurgischer Patienten realisierbar erscheinen lassen.

## 7 Conclusion

We hypothesized that the elevation of the L-arginine plasma concentration would reduce the ADMA-dependent perioperative risk of cardiovascular events. Furthermore we re-evaluated the importance of the ADMA plasma level as an independent cardiovascular risk marker in patients undergoing an elective, non-cardiac surgery.

Overall 269 patients were considered in this clinical trial and depending on their randomization, they received preoperative treatment twice a day with 3 g of either an L-arginine/L-citrulline supplement or a placebo for 1 to 5 days.

Measurements of the L-arginine and ADMA plasma concentration were performed preoperatively, on the day of surgery as well as the first and the third postoperative day and then determined with LC-MS/MS.

Up to 30 days follow-up after the operation we documented a composite primary end point composed defined by the occurrence of all cause mortality, acute coronary syndrome, decompensated congestive heart failure major thrombosis or embolism (pulmonary or cerebrovascular).

The essential findings of this study are primarily that an elevated ADMA plasma concentration is a significant risk factor for cardiovascular complications in peri- and postoperative period. Furthermore ADMA was verified as a predictor for such adverse events.

Considering the whole collective of patients there were no statistically significant differences between the two study-groups regarding the event rate of the composite primary end point, most likely due to the lack of statistical power.

However, this study showed that an oral supplementation with an L-arginine/L-citrulline compound leads to an elevation of the L-arginine/ADMA ratio, which according to studies is associated with a reduced risk of cardiovascular complications and the overall mortality. So you can speculate that the oral supplementation with a L-arginine/L-citrulline compound over a prolonged perioperative time span would significantly reduce the ADMA-dependent perioperative risk of cardiovascular complications. That should be subject of further investigation.

Due to the multifactorial etiology of cardiovascular morbidity and mortality you can not expect that one singular measure is able to reduce the absolute perioperative risk. But the acknowledgment, that ADMA levels as a preoperative risk factor would be therapeutically influenceable, would fill in an essential gap in perioperative medical care and the overall goal of a specific risk preventing therapy of surgical patients would appear feasible.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ADMA	asymmetrisches Dimethylarginin
ADP	Adenosindisphosphat
AKIN	Acute Kidney Injury Network
AKS	akutes Koronarsyndrom
ALT/ALAT	Alanin-Aminotransferase
AMG	Arzneimittelgesetz
AP	Angina pectoris
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ARDS	acute respiratory distress syndrome
ASA	American Society of Anesthesiologists
As. L.	Argininosuccinat-Lyase
As. S.	Argininosuccinat-Synthase
ASS	Acetylsalicylsäure
AST/ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
AT-1	Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1
BMI	Body Mass Index
BH <sub>4</sub>	Tetrahydrobiopterin
bzw.	beziehungsweise
Ca <sup>2+</sup>	Kalziumionen
CBA	Carbonsäure
cCT	craniale Computertomographie
cGMP	zyklisches Guanosin-3',5'-monophosphat
CI	Konfidenzintervall
CK	Creatinkinase
CK-MB	Muscle-Brain type Creatinkinase
cMRT	cerebrale Magnetresonanztomographie
COPD	chronic obstructive pulmonary disease
CRP	C-reaktives Protein
cCT	cerbrale Computertomographie
DDAH	Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase
DGAI	Deutsche Gesellschaft für Anästhesie und Intensivmedizin

d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
ESC	European Society of Cardiology
et al.	et alii, et aliae oder et alia
etc.	et cetera
EuSOS	European Surgical Outcomes Study
FAD	Flavin-Adenin-Dinucleotid
FMN	Flavin-Mononucleotid
g	Gramm
g/d	Gramm pro Tag
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
ggf.	gegebenenfalls
h	Stunde
HCL	Salzsäure
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie
HR	Hazard Ratio
ICU	Intensive Care Unit
ID	Identifikationsnummer
IL	Interleukin/e
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartile Range
KHK	koronare Herzkrankheit
KG	Körpergewicht
Kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
kJoule	Kilojoule
LC-MS/MS	Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie
LDL	Low Density Lipoprotein
L-NMMA	NG-Monomethyl-L-Arginin
LURIC	Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health
MET	Metabolic Equivalent Threshold

mg/dl	Milligramm pro Deziliter
MI	Myokardinfarkt
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µmol/L	Mikromol pro Liter
MONICA	MONItoring CARdiovascular disease
MOV	Multiorganversagen
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NADP(H)	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat-(Oxidase)
n	Anzahl
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxid-Synthase
n.s.	nicht signifikant
NSTEMI	Non-ST-segment Elevation Myocardial Infarction
NT-proBNP	N-terminales pro Brain natriuretic Peptide
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superoxidanionen, Sauerstoffradikale
o.g.	oben genannten
ONOO <sup>-</sup>	Peroxynitrit
OP	Operation
OPA	o-Phthaldialdehyd
OR	Odds Ratio
OTC	Ornithin-Transcarbamylase
PaCO <sub>2</sub>	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PCT	Procalcitonin
PDE	Phosphodiesterase
POISE	Peri-Operative ISchemic Evaluation
PRIND	prolongiertes reversibles ischämisches neurologisches Defizit
PRMT	Protein-N-Arginin-Methyltransferase

RCRI	Revised Cardiac Risk Index
rpm	revolutions per minute
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SAH	S-Adenosylhomocystein
SAM	S-Adenosylmethionin
SD	Standardabweichung
SDMA	symmetrisches Dimethylarginin
sGC	soluble Guanylyl Cyclase
SIRS	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
STEMI	ST-segment Elevation Myocardial Infarction
TEE	Transösophageale Echokardiographie
THB4	Tetrahydrobioptin
TIA	Transitorische ischämische Attacke
TNF-Alpha	Tumornekrosefaktor
u.a.	unter anderem
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
vgl.	vergleiche
VO2	Sauerstoffaufnahme
vs.	Versus
VSG-CRI	Vascular Study Group-Cardiac Risk Index
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach

## 9 Literaturverzeichnis

Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001; 88: 1201-1203

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

Ackland GL, Harris S, Ziabari Y et al. Revised cardiac risk index and postoperative morbidity after elective orthopaedic surgery: a prospective cohort study. *Br J Anaesth* 2010; 105: 744-752

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

Ast J, Jablecka A, Bogdanski P, Smolarek I, Krauss H, Chmara E. Evaluation of antihypertensive effect of L-arginine supplementation in patients with mild hypertension assessed with ambulatory blood pressure monitoring. *Med Sci Monit* 2010; 16(5): 266-271

Bakker EJ, Niels JC et al. Perioperative cardiac evaluation, monitoring, and risk reduction strategies in noncardiac surgery patients. *Current Opinion in Critical Care*. 2011; 17: 409-415

Bansal V, Ochoa JB. Arginine availability, arginase, and the immune response. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003; 6(2): 223-228

Barbul A, Fishel RS, Shimazu S, et al. Intravenous hyperalimentation with high arginine levels improves wound healing and immune function. *J Surg Res*. 1985; 38(4): 328-334

Bednarz B, Wolk R, Chamiec T et al. Effects of oral L-arginine on exercise-induced QT dispersion and exercise tolerance in stable angina pectoris. *Int J Cardiol.* 2000; 75: 205-210

Bertges DJ, Goodney PP, Zhao Y, et al. The Vascular Study Group of New England Cardiac Risk Index (VSG-CRI) predicts cardiac complications more accurately than the Revised Cardiac Risk Index in vascular surgery patients. *J Vasc Surg* 2010; 52: 674-683

Blum A, Hathaway L, Mincemoyer R, Schenke WH, Kirby M, Csako G, Waclawiw MA, Panza JA, Cannon RO., 3rd Effects of oral L-arginine on endothelium-dependent vasodilation and markers of inflammation in healthy postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 35: 271–276

Bode-Böger SM, Böger RH, Galland A, Tsikas D, Frölich JC. L-arginine-induced vasodilation in healthy humans: pharmacokinetic–pharmacodynamic relationship. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 46: 489–497

Bode-Böger SM, Böger RH, Löffler M, Tsikas D, Brabant G, Frölich JC. L-Arginine stimulates NO-dependent vasodilation in humans - effect of somatostatin pretreatment. *J. Invest Med.* 1999; 47: 43–50

Bode-Böger SM, Muke J, Surdacki A, Brabant G, Böger RH, Frölich JC. Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years. *Vasc Med.* 2003; 8: 77–81

Böger GI, Rudolph TK, Maas R et al. Asymmetric dimethylarginine determines the improvement of endothelium-dependent vasodilation by simvastatin: Effect of combination with oral L-arginine. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49: 2274-2282

Böger RH. The Pharmacodynamics of L-Arginine. *J. Nutr.* 2007; 137: 1650S-1655S

Böger RH, Bode-Böger SM, Heinzl D, Höper M, Mügge A, Frölich JC. Differential systemic and pulmonary haemodynamic effects of L-arginine in patients with coronary heart disease and primary pulmonary hypertension. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 1996; 34: 323–328

Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1997; 95: 2068-2074

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

Böger RH, Bode-Böger SM, 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: 273-284

Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Creutzig A et al. Restoring vascular nitric oxide formation by l-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Am Coll Cardiol* 1998c; 32: 1336-1344

Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998b; 98: 1842-1847

Böger RH, Endres HG, Schwedhelm E et al. Asymmetric dimethylarginine as an independent riskmarker for mortality in ambulatory patients with peripheral arterial disease. *J Internal Med* 2011; 269(3): 349-361

Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, Schulze F, Xanthakis V, Benndorf RA and Vasan RS. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation* 2009; 119(12): 1592-1600

Böger RH, Sydow K, Borlak J, et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 2000; 87: 99-105

Böger RH, Tsikas D, Bode-Böger SM, Phivthong-Ngam L, Schwedhelm E, Frölich JC. Hypercholesterolemia impairs basal nitric oxide synthase turnover rate: a study investigating the conversion of L-[guanidino-<sup>15</sup>N<sub>2</sub>]-arginine to <sup>15</sup>N-labeled nitrate by gas chromatography-mass spectrometry. *Nitric Oxide* 2004; 11:1–8

Böger RH, Vallance P, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a key regulator of nitric oxide synthase. *Atheroscler Suppl.* 2003; 4: 1–3

Bouri S, Shun-Shin MJ, Cole GD, Mayet J, Francis DP. Meta-analysis of secure randomised controlled trials of  $\beta$ -blockade to prevent perioperative death in non-cardiac surgery. *Heart* 2014; 100(6): 456-464

Burris JM, Subramanian A, Sansgiry S, et al. Perioperative atrial arrhythmias in noncardiothoracic patients: a review of risk factors and treatment strategies in the veteran population. *Am J Surg* 2010; 200: 601-605

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

Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY, et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation: The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2010; 31: 2369-2429

Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 1984; 76: 4-12

Castillo L, de Rojas T, Chapman TE, Vogt J, Burke JF, Tannenbaum SR, Young VR. Splanchnic metabolism of dietary arginine in relation to nitric oxide synthesis in normal adult man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 193-197

Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 471-476

Claes KJ, Bammens B et al. Time course of asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine levels after successful renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29(10): 1965-1972

Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, Donald AE, McCredi R, Deanfield JE et al. Oral L-arginin improves endothelium-dependent dilatation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 1996; 97: 1989-1994

Cleland SJ, Sattar N, Petrie JR, Forouhi NG, Elliott HL, Connell JMC et al. Endothelial dysfunction as a possible link between C-reactive protein levels and cardiovascular disease. *Clin. Sci. (London)* 2000; 98: 531–535

Closs EI, Simon A, Vekony N, Rotmann A. Plasma membrane transporters for arginine. *J Nutr* 2004; 134 (10 Suppl.): 2752-2759

Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; 364(9435): 685–696

Cooke JP, Singer AH, Tsao P, Zera P, Rowan RA, Billingham ME. Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J Clin Invest.* 1992; 90: 1168–1172

Creager MA, Gallagher SJ, Girerd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248 –1253

Curis E, Nicolis I et al. Almost all about citrulline in mammals. *Amino acids* 2005; 29: 177-205

Cynober LA et al. Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition* 2002; 18: 761-766

D'Alecy LG, Billecke SS. Massive quantities of asymmetric dimethylarginine (ADMA) are incorporated in red blood cell proteins and may be released by proteolysis following hemolytic stress. *Blood Cells Mol Dis* 2010; 45: 40

Dauids M, van Hell AJ, Visser M et al. Role of the human erythrocyte in generation and storage of asymmetric dimethylarginine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 302: H1762-H1770

Dayoub H, Achan V, Adimoolam S, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation* 2003; 108: 3042-3047

De Jager J, Dekker JM, Kooy A, Kostense PJ, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD et al. Endothelial dysfunction and low-grade inflammation explain much of the excess cardiovascular mortality in individuals with type 2 diabetes: the hoorn study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 1086–1093

Delles C, Schneider MP, John S, Gekle M, Schmieder RE. Angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1-receptor blockade reduce the levels of asymmetric N(G),N(G)-dimethylarginine in human essential hypertension. *Am J Hypertens* 2002; 15: 590-593

Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin; Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin; Deutsche Gesellschaft für Chirurgie. Präoperative Evaluation erwachsener Patienten vor elektiven, nicht kardiochirurgischen Eingriffen. Gemeinsame Empfehlungen der Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin, Deutsche Gesellschaft für Chirurgie. *Anaesthesist* 2010; 59: 1041-1050

Devereaux PJ, Yang H, Yusuf S, et al. Effects of extended-release metoprolol succinate in patients undergoing noncardiac surgery (POISE-trial): a randomized controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 1839-1847

Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet.* 1991; 338: 1546–1550

Dripps RD, Lamont A, Eckenhoff JE. The role of anaesthesia in surgical mortality. *JAMA* 1961; 178: 261-266

Dunkelgrun M, Boersma E, Schouten O, et al. Bisoprolol and Fluvastatin for the reduction of -perioperative cardiac mortality and myocardial infarction in intermediate-risk patients undergoing noncardiovascular surgery: a randomized controlled trial (DECREASE-IV). *Ann Surg* 2009; 249: 921-926

Durazzo AE, Machado FS, Ikeoka DT, et al. Reduction in cardiovascular events after vascular surgery with atorvastatin: a randomized trial. *J Vasc Surg* 2004; 39: 967-975

Eagle KA, Froehlich JB, Reducing cardiovascular risk in patients undergoing noncardiac surgery. *N Engl J Med*. 1996; 335: 1761-1763

Eid HM, Arnesen H, Hjerkin EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism* 2004; 53: 1574-1579

Eid HM, Eritsland J, Larsen J, Arnesen H, Seljeflot I. Increased levels of asymmetric dimethylarginine at population at risk for atherosclerotic disease. Effects of pravastatin. *Atherosclerosis* 2003; 41: 219-222

Ellger B, Richir MC, van Leeuwen PAM et al. Glycemic control modulates arginine and asymmetrical-dimethylarginine levels during critical illness by preserving dimethylarginine–dimethylaminohydrolase activity. *Endocrinology* 2008; 149: 3148–3157

Endemann DH, Schiffrin EL et al. Endothelial Dysfunction. Canadian Institutes of Health Research Multidisciplinary Research Group on Hypertension and Hypertension Clinic, Clinic Research Institute of Montréal, Montréal, Québec, Canada. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1983-1992

ESC/ESA Guidelines. *European Heart Journal* 2014; 35: 2383–2431

Facchinetti F, Longo M, Piccinini F, Neri I, Volpe A. L-arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitric oxide release. *J Soc Gynecol Investig*. 1999; 6(4): 202-207

Fleisher LA, Eagle K. Lowering cardiac risk in noncardiac surgery. *N Engl J Med* 2001; 345: 1677-1682

Förstermann U, Gath I, Schwartz P, Closs EI, Kleinert H. Isoforms of nitric oxide synthase. Properties, cellular distribution and expressional control. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 1321-1332

Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373–376

Galal W, Hoeks SE, Flu WJ, et al. Relation between preoperative and intraoperative new wall motion abnormalities in vascular surgery patients: a transesophageal echocardiography study. *Anaesthesiology* 2010; 112: 557-566

García-Miguel FJ, Serrano-Aguilar PG, López-Bastida J. Preoperative assessment. *Lancet* 2003; 362: 1749-1757

Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromocyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989; 83: 1774–1777

Gokce N. L-Arginine and hypertension. *J Nutr* 2004; 134: 2798-2811

Grayburn PA, Hillis LD. Cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery shifting the paradigm from noninvasive risk stratification to therapy. *Ann Intern Med* 2003; 138: 506–511

Griendling KK, FitzGerald GA: Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: Basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108: 1912–1916

Heart Protection Study Collaborative Group. Randomized trial of the effects of cholesterol-lowering with simvastatin on peripheral vascular and other major vascular outcomes in 20,536 people with peripheral arterial disease and other high-risk conditions. *J Vasc Surg* 2007; 45(4): 645–654

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

Hornig B, Arakawa N, Böger RH, Bode-Böger SM et al. Plasma levels of ADMA are increased and inversely related to endothelium-mediated vasodilatation in patient with chronic heart failure: a new predictor of endothelial dysfunction? *Circulation* 1998 (suppl.): I-318 (abs.)

Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*. 1999; 99(24): 3092-3095

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

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

Konishi H, Sydow K, Cooke JP. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase promotes endothelial repair after vascular injury. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1099-1105

Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4651-4655

Kurose I, Wolf R, Grisham MB et al. Effects of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis on postcapillary venules. *Am J Physiol* 1995; 268: 2224-2231

Laufs U, La F, Plutzky J et al. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG-CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998; 97: 1129-1135

Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM, et al. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of a major noncardiac surgery. *Circulation* 1999; 100: 1043-1049

Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogeneous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 1999; 43: 542-548

Leitner EC, Klinke A, Atzler D et al. Pathogenic Cycle Between the Endogenous Nitric Oxide Synthase Inhibitor Asymmetrical Dimethylarginine and the Leukocyte-Derived Hemoprotein Myeloperoxidase. *Circulation.* 2011; 124: 2735-2745

Lerman A, Burnett JC Jr., Higano ST, McKinley LJ, Holmes DR Jr. Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation* 1998; 97: 2123-2128

Lin KY, Ito A, Asagami T et al. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 2002; 106: 987-992

L'Italien GJ, Paul SD, Hendel RC, Lepro JA, Cohen MC, Fleisher LA, Brown KA, Zarich SW, Cambria RP, Cutler BS, Eagle KA. Development and validation of a Bayesian model for perioperative cardiac risk assessment in a cohort of 1,081 vascular surgery patients. *J Am Coll Cardiol.* 1996; 27: 779-786

Lopez-Jimenez F, Goldman L, Sacks DB, Thomas EJ, Johnson PA, Cook EF, Lee TH. Prognostic value of cardiac troponin T after noncardiac surgery: 6-month follow-up data. *J Am Coll Cardiol.* 1997; 29(6): 1241-1245

Lüneburg N, Xanthakis V, Schwedhelm E, Sullivan LM, Maas R, Andersohn M, Riederer U, Glazer NL, Vasan RS, Böger RH. Reference intervals for plasma L-Arginine and the L-Arginine/ADMA-Ratio in the Framingham Offspring Cohort. *Am J Nutr.* 2011; 141: 2186-2190

Maas R. Pharmacotherapies and their influence on asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Vasc. Med* 2005; 10 (Suppl. 1): 49-57

Maas R, Dentz L, Schwedhelm E, Thoms W et al. Elevated plasma concentration of the endogeneous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine predict adverse events in patients undergoing noncardiac surgery. *Crit Care Med* 2007; 35: 1876-1881

MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1533-1540

Mangano DT, Goldman L. Perioperative assessment of patients with known or suspected coronary disease. *N Engl J Med*. 1995; 333: 1750-1756

McBride AE, Silver PA. State of the Arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell*. 2001; 106: 5-8

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

McNicol L, Story DA, Leslie K, et al. Postoperative complications and mortality in older patients having non-cardiac surgery at three Melbourne teaching hospitals. *Med J Aust* 2007; 186: 447-452

Mehta S, Stewart DJ, Langleben D, Levy RD. Short-term pulmonary vasodilation with L-arginine in pulmonary hypertension. *Circulation* 1995; 92(6): 1539-1545

Meinitzer A, Seelhorst U, Wellnitz B et al. Asymmetrical dimethylarginine independently predicts total and cardiovascular mortality in individuals with angiographic coronary artery disease (the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *Clin Chem* 2007; 53: 273-283

Mittermayer F, Krzyzanowska K, Exner M et al. Asymmetric dimethylarginine predicts major adverse cardiovascular events in patients with advanced peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2536-2640

Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999; 99: 1141-1146

Moncada S, Higgs A et al. The L-arginin-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993; 329: 2002-2012

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

Morris CK, Ueshima K, Kawaguchi T, et al. The prognostic value of exercise capacity: a review of literature. *Am Heart J* 1991; 122:1423-1431

Morris SM Jr. Enzymes of arginine metabolism. *J Nutr* 2004; 134: 2743S-2747S

Murphy C and Newsholme P. Importance of glutamine metabolism in murine macrophages and human monocytes to L-arginine biosynthesis and rates of nitrite or urea production. *Clin Sci* 1998; 95: 397-407

Mügge A and Harrison DG. L-Arginine does not restore endothelial dysfunction in atherosclerotic rabbit aorta in vitro. *Blood Vessel* 1991; 28: 354-357

Naughton C, Feneck RO et al. The impact of age on 6-month survival in patients with cardiovascular risk factors undergoing non-cardiac surgery. *Int J Clin Pract* 2007; 61: 768-776

Nijveldt RJ, Teerlink T, van der Hoven B et al. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr* 2003; 22: 23-30

Nowbar AN, Cole JD et al. International RCT-based guidelines for use of preoperative stress testing and perioperative beta-blockers and statins in non-cardiac surgery *Int J Cardiol* 2014; 172(1): 138-143

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

Owens WD, Felts JA, Spitznagel EL Jr. ASA physical status classifications: a study of consistency of ratings. *Anesthesiology* 1978; 49(4): 239-243

Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE: Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22–27

Patel JJ, Miller KR et al. When Is It Appropriate to Use Arginine in Critical Illness? *Nutrition in Clinical Practice* 2016; 31: 438-444

Piatti PM, Fragasso G, Monti LD, Setola E, Marchesi F, Lucotti P, Fermo I, Paroni R, Margonato A et al. Acute intravenous L-arginine infusion decreases Endothelin-1 levels and improve endothelial function in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms. Correlation with asymmetric dimethylarginine levels. *Circulation* 2003; 107: 429-436

Plicner D, Mazur P, Sadowski J, Undas A. Asymmetric dimethylarginine and oxidative stress following coronary artery bypass grafting: associations with postoperative outcome. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014; 45(5): e136-141

Poldermans D, Bax, JJ, Boersma E, et al. Guidelines for preoperative cardiac risk assessment and perioperative cardiac management in noncardiac surgery *Eur Heart J* 2009; 30: 2769-2812

Poldermans D, Bax JJ, Kertai MD et al. Statins are associated with a reduced cardiovascular mortality in patients undergoing major noncardiac vascular surgery. *Circulation* 2003; 107: 1848-1851

Poldermans D, Boersma E, Bax JJ et al. The effect of bisoprolol on perioperative mortality and myocardial infarction in high risk patients undergoing vascular surgery. Dutch Echocardiographic Cardiac Risk Evaluation Applying Stress Echocardiography Study Group. *N Engl J Med* 1999; 341: 1789-1794

Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; 2: 1057–1058

Raghavan SA, Dikshit M. L-citrulline mediated relaxation in the control and lipopolysaccharide-treated rat aortic rings. 2001; *Eur J Pharmacol* 431: 61-69

Rodriguez PC, Zea AH, DeSalvo J, et al. L-arginine consumption by macrophages modulates the expression of CD3 zeta chain in T lymphocytes. *J Immunol.* 2003;171(3): 1232-1239

Ross R. Artherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-126

Rueckschloss U, Quinn MT, Holtz J, Morawietz H. Dose-dependent regulation of NAD(P)H oxidase expression by angiotensin II in human endothelial cells: protective effect of angiotensin II type I receptor blockade in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22:1845-1851

Saklad M. Grading of patients for surgical procedures. *Anesthesiology* 1941; 2: 281-284

Schiffrin EL. A critical review of the role of endothelial factors in the pathogenesis of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 38[Suppl2]: 3-6

Schmidt HHHW, Nau H, Wittforth W, Gerlach J, Prescher KE, Klein MM, Niroomand F, Bohme E. Arginine is a physiological precursor of endothelium derived relaxing factor. *Eur J Pharmacol* 1988; 154: 213-216

Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: Results from the AtheroGene Study. *Circ Res* 2005; 97: e53–e59

Schnabel R, Blankenberg S. Oxidative Stress in cardiovascular disease. Successful translation from Bench to bedside? *Circulation.* 2007;116: 1338-1340

Schouten O, Boersma E, Hoeks SE, et al. Fluvastatin and perioperative events in patients undergoing vascular surgery. *N Engl J Med* 2009; 361:980-989

Schwedhelm E, Maas R, Freese R, Jung D, Lukacs Z, Jambrecina A, Spickler W, Schulze F, Böger RH. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine: impact on nitric oxide metabolism. *British Journal of Clinical Pharmacology.* 2007a;65(1): 51-59

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

Schwedhelm E, Xanthakis V, Maas R, Sullivan LM, Schulze F, Riederer U, Benndorf RA, Böger RH and Vasan RS. Asymmetric dimethylarginine reference intervals determined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry: results from the Framingham offspring cohort. *Clin Chem* 2009; 55(8): 1539-1545

Sever PS, Dahlöf B, Poulter NR et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial–Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361(9364): 1149–1158

Souci SW, Fachmann W, Kraut H. The composition of nutrition tables, 5th edition. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart; 1994

Statistisches Bundesamt 2014.

<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/HaeufigsteTodesursachen.html;jsessionid=26E765933BBC0CE8E16E77E5C7C9AA74.cae1>

Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84: 1381–1478

Story DA, Leslie K, Myles PS, et al. Complications and mortality in older surgical patients in Australia and New Zealand (the REASON study): a multicentre, prospective, observational study. *Anaesthesia* 2010; 65: 1022-1030

Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine Impairs the Nitric Oxide Synthase Pathway Role of Asymmetric Dimethylarginine. *Circulation* 2001; 104: 2569-2575

Tang J, Frankel A, Cook RJ, et al. PRMT1 is the predominant type I protein arginine methyltransferase in mammalian cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 7723-7730

Theilmeier G, Coldewey SM et al. Perioperatives Risiko. Kochs u.a., *Anästhesiologie* (ISBN 9783131148629) Georg Thieme Verlag KG 2009; 570-579

Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD: the writing group on behalf of the joint ESC/ACCF/AHA/WHF task force for the universal definition of myocardial infarction. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012; 33: 2551-2567

Tsao PS, Theilmeier G, Singer AH, Leung LL, Cooke JP. L-arginine attenuates platelet reactivity in hypercholesterolemic rabbits. *ArteriosclerThromb.* 1994; 14: 1529 –1533

Tsikas D, Böger RH, Sandmann J, Bode-Böger SM & Frölich JC. Hypothesis: endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. *FEBS Lett.* 2000a; 23810: 1–3

Tsikas D, Sandmann J, Savva A, Luessen P, Böger RH, Gutzki FM, Mayer B, Frölich JC. Assessment of nitric oxide synthase activity in vitro and in vivo by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2000b; 742: 143–153

Valkonen VP, Laaksonen R. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clinica Chimica Acta* 2004; 348: 9-7

Valkonen VP, Laasko J, Paiva H, et al. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and risk of acute coronary events. Does statin treatment influence plasma ADMA levels? *Artheroscler Suppl* 2003; 4: 19-22

Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetric dimethylarginine. *Lancet* 2001; 358: 2127–2128

Vallance P, Leiper J: Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: Dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1023–1030

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339:572-576

Vane JR, Änggard EE, Botting RM et al. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323: 27–36

Vanhoutte PM et al. The endothelium: modulator of vascular smooth muscle tone. *N. Engl. J. Med.* 1988; 319: 512–513

Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* 2002; 106: 913-919

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

Walker HA, McGing E, Fisher I, Böger RH, Bode-Böger SM, Jackson G, Ritter JM, Chowienczyk PJ. Endothelium-dependent vasodilation is independent of the plasma L-arginine/ADMA ratio in men with stable angina: lack of effect of oral L-arginine on endothelial function, oxidative stress and exercise performance. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 38: 499–505

Wang BY, Candipan RC, Arjomandi M, Hsiun PT, Tsao PS, Cooke JP. Arginine restores nitric oxide activity and inhibits monocyte accumulation after vascular injury in hypercholesterolemic rabbits. *J Am Coll Cardiol.* 1996; 28: 1573–1579

Wang J, Sim AS, Wang XL, Wilcken DE. L-arginine regulates asymmetric dimethylarginine metabolism by inhibiting dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity in hepatic (HepG2) cells. *Cell Mol Life Sci.* 2006; 63: 2838–2846

Waugh WH, Daeschner CW et al. Oral citrulline as arginine precursor may be beneficial in sickle cell disease: early phase two results. *J Natl Med Assoc.* 2001; 93: 363-371

Weis M, Kledal TN, Lin KY et al. Cytomegalovirus infection impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine in transplant arteriosclerosis. *Circulation* 2004; 109: 500-505

Weiser TG, Haynes AB, Molina G et al. Estimate of the global volume of surgery in 2012: an assessment supporting improved health outcomes. *Lancet* 2015; 385(Suppl 2): S11

Wolfe RR, Martini WZ. Changes in intermediary metabolism in severe surgical illness. *World J Surg.* 2000; 24: 639-647

WU G, Morris SM Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J.* 1998; 336: 1-17

Yoo JH, Lee SC et al. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 2001; 158: 425-430

Young JM, Strey CH, George PM et al. Effect of atorvastatin on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with non ischaemic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2008; 10: 463-466

Zhou M, Martindale RG. Arginine in the critical care setting. *J Nutr.* 2007; 137(6) (suppl 2): 1687S-1692S

Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, et al. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: A prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113–2117

## 10 Anhang

### 10.1 Erst-Kontakt-Bogen

»Effekte einer oralen Einnahme der Aminosäure L-Arginin auf das perioperative Risikobei nicht-selektierten Patienten – Einfluss der präoperativen ADMA-Messung für die therapeutische Stratifizierung.«  
(UKE-KP 2009/001)

### Stammdatenbogen

#### Stammdatensatz

PAT-ID [\_\_\_\_\_]  
Probandengruppe A  B   
Einschluss in die Studie Datum [\_\_\_\_\_] TTMMJJ  
Alter [\_\_\_\_\_] JJ  
Geschlecht m  w



#### OP-Datensatz

Datum der Operation Datum [\_\_\_\_\_] TTMMJJ  
Operativer Eingriff: \_\_\_\_\_

#### Gewünschte Kontaktmöglichkeit

Für das Telefonat am 30. postoperativen Tag benötigen wir eine Telefonnummer des Patienten. Der Patient wünscht den Anruf unter der Telefonnummer \_\_\_\_\_.

#### Einschluss in die Studie

Frau/Herr \_\_\_\_\_ wurde anhand der Ein- und Ausschlusskriterien durch Dr. \_\_\_\_\_ in die Studie eingeschlossen. Der Einwilligungsbogen liegt unterschrieben vor. Die Medikamente und die Patienteninformation wurden dem Patienten übergeben. Es erfolgte die Abnahme eines Serumröhrchens.

Bei Fragen und zum Abholen der Blutprobe bitte Anruf unter: 9-xxxxx.

Hamburg, den

\_\_\_\_\_  
Aufklärender Anästhesist

### 10.1.1 Probandeninformation



Universitätsklinikum  
Hamburg-Eppendorf

Institut für Experimentelle und  
Klinische Pharmakologie und  
Toxikologie

Abteilung für Pharmakologie  
- Klinische Pharmakologie -  
Prof. Dr. Rainer H. Böger

Martinistrasse 52  
20246 Hamburg  
Telefon: (040) 7410-59759  
Telefax: (040) 7410-59757  
boeger@uke.uni-hamburg.de  
www.uke.uni-hamburg.de

#### Patienteninformation

##### über die Studie

» Wirkung einer oralen Supplementierung mit L-Arginin auf das perioperative Risiko bei elektiven abdominalen oder thorakalen Eingriffen – Bedeutung des präoperativen ADMA-Plasmaspiegels als perioperativer Risikomarker. «

(UKE-KP 2009/001)

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind die Todesursache Nummer eins in Deutschland. Typische Risikofaktoren, sind Bluthochdruck, Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörungen, Rauchen, Übergewicht und Familienangehörige, die bereits einen Herzinfarkt erlitten haben. Das gilt auch für den Zeitraum vor, während und unmittelbar nach größeren chirurgischen Eingriffen. Durch den Sie betreuenden Narkose-Arzt wird deshalb eine sorgfältige Beurteilung möglicher Risikofaktoren im Rahmen der normalen Narkose-Voruntersuchungen durchgeführt.

In einer bereits abgeschlossenen wissenschaftlichen Untersuchung sind wir der Frage nachgegangen, ob es durch Messung eines Markers im Blutplasma möglich ist, durch einen solchen einfachen Bluttest eine zuverlässige Aussage über das vermutliche, mit dem operativen Eingriff verbundene Risiko für Herz-Kreislaufkomplikationen zu erhalten, die die bisher übliche Risikoeinschätzung verbessert. Bei diesem Marker handelt es sich um asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA), das im Körper im Eiweißstoffwechsel entsteht. Bei Patienten mit Herz-Kreislaufkrankungen sind die ADMA-Konzentrationen im Vergleich zum Gesunden um das Zwei- bis Sechsfache erhöht.

Vorangegangene Studien von uns und von anderen Forschergruppen haben bereits zeigen können, dass die Messung der Konzentration von ADMA im Blutplasma von Patienten mit Nierenerkrankungen oder mit koronarer Herzkrankheit eine vergleichsweise genaue Voraussage über das Risiko erlaubt, in den folgenden 3 Jahren einen Herzinfarkt zu erleiden oder gar daran zu versterben.

Wir konnten nachweisen, dass Patienten mit hohen ADMA-Blutspiegeln ein deutlich höheres Risiko haben, innerhalb eines 30-Tages-Zeitraumes nach der Operation eine Komplikation zu erleiden, als Patienten mit niedrigen ADMA-Blutspiegeln. Der mittlere ADMA-Blutspiegel in der genannten Studie lag bei  $0,8 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$ . Mit jedem Anstieg der ADMA-Konzentration um  $0,1 \mu\text{mol/l}$  war das Risiko einer Komplikation um ein Drittel erhöht.

Wir wissen heute, daß dieser Botenstoff ADMA im Körper die Bildung von Stickstoffoxiden (NO) hemmt, die eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der normalen Herz-Kreislauf-Funktionen spielen. NO wird normalerweise aus der Vorstufe L-Arginin gebildet, einer Aminosäure, die als Bestandteil aller Eiweiße in unserem Körper und in der Nahrung in hohen Mengen vorkommt. Allerdings scheinen bei Menschen mit hohen ADMA-Blutspiegeln diese Mengen von L-Arginin nicht auszureichen, um die normalen Funktionen des Kreislaufsystems sicherzustellen, und dann kann es zu Komplikationen unter Stress-Situationen kommen, wie eine größere Operation sie darstellt.

Mit der Nahrung nimmt der menschliche Körper durchschnittlich 5-6 g L-Arginin am Tag auf. Wir konnten in vorangegangenen Studien zeigen, dass die zusätzliche Einnahme eines L-Arginin-Pulvers in Höhe von 3 g zweimal am Tage zu einer Verbesserung der Kreislauf-Funktionen führen kann, wenn ein Patient hohe ADMA-Blutspiegel hat. Allerdings ist die Messung der ADMA-Blutspiegel noch keine Routine-Untersuchung.

In der Ihnen hier vorgeschlagenen Studie soll dementsprechend untersucht werden, ob die Gabe der Aminosäure L-Arginin während eines kurzen Zeitraumes vor der bei Ihnen geplanten Operation einen positiven Einfluss auf den Verlauf Ihrer Genesung während eines 30-Tages-Zeitraumes nach der Operation hat. Wir werden Ihnen, wenn Sie in die Teilnahme an dieser Studie einwilligen, von Ihrem Vorgespräch mit dem Narkosearzt an bis zum Morgen der Operation morgens und abends jeweils sechs Kapseln verabreichen, in denen 3 g L-Arginin (in Form von L-Arginin und L-Citrullin) enthalten sind. Nehmen Sie diese Kapseln bitte mit einem Glas Wasser ein; letztmalig am Morgen der Operation, wenn Sie nichts mehr essen dürfen, aber noch einmal ein Glas Wasser erhalten, um einige für die Narkose wichtige Medikamente einzunehmen. Das in den Kapseln enthaltene L-Citrullin wird mit geringer zeitlicher Verzögerung in L-Arginin umgewandelt und sorgt dafür, dass die Blutkonzentration von L-Arginin über mehrere Stunden erhöht bleibt.

Ein Teil der in diese Studie eingeschlossenen Patienten (insgesamt ist die Untersuchung von ca. 640 Patienten vorgesehen) wird Kapseln erhalten, in denen keine Wirksubstanz enthalten ist (sog. Placebo). Es ist in jedem Falle wichtig, dass Sie das Ihnen verabreichte Produkt wie vorgesehen zweimal täglich, morgens und abends, einnehmen, letztmalig am Morgen der Operation. Weder Sie selbst, noch der Sie behandelnde Narkose-Arzt oder der Chirurg werden wissen, ob Sie L-Arginin oder Placebo erhalten haben (sog. doppelblinde Studie). Dies soll dazu dienen, etwaige subjektive Einflüsse auf die Wahrnehmung oder Dokumentation von Auffälligkeiten während Ihrer Behandlung auszuschließen.

Wir werden dann in den auf die Operation folgenden 30 Tagen bei Ihnen und allen weiteren Patienten, die an dieser Studie teilnehmen, sämtliche ungewöhnlichen Vorfälle, Komplikationen und Gesundheitsstörungen notieren. Daraus erhoffen wir uns, am Ende eine Aussage darüber machen zu können, ob diejenigen Patienten, bei denen es trotz größtmöglicher Sorgfalt zu einer Komplikation kam, am Anfang höhere ADMA-Konzentrationen in ihrem Blutplasma aufwiesen als die komplikationsfreien Patienten. Ferner wollen wir feststellen, ob die Gabe von L-Arginin während eines eng umschriebenen Zeitraumes vor dem operativen Eingriff zu einer nachhaltigen Verbesserung der Komplikationsrate nach der Operation führt.

**Welches sind die Risiken, die mit meiner Teilnahme an der Studie verbunden sein können?**

L-Arginin ist eine natürlich in der Nahrung und im menschlichen Körper als Bestandteil der Eiweißkörper vorkommende Substanz. In der täglichen Nahrung sind ca. 4-6 g L-Arginin / Tag enthalten. Es gibt jedoch Hinweise, dass bei bestimmten Erkrankungen, darunter u.a. Herz- Kreislauferkrankungen, diese L-Arginin-Menge in der Nahrung nicht ausreichend ist, um alle L-Arginin-abhängigen Körperfunktionen in vollem Umfang aufrechtzuerhalten. Erfahrungsgemäß sind bei der zusätzlichen Einnahme von ca. 3-6 g L-Arginin/Tag mit der Nahrung sehr wenige Nebenwirkungen zu erwarten. In mehreren vorangegangenen Studien, an denen 50 Personen teilgenommen haben, kam es bei keinem der Versuchsteilnehmer zu einer Unverträglichkeitsreaktion, aufgrund derer er oder sie die Untersuchung hätte abbrechen müssen. Nur vier Studienteilnehmer berichteten über weichen Stuhlgang (aber nicht Durchfall), der jedoch keine Behandlung erforderte und auch nicht das Absetzen des Nahrungsergänzungsmittels erforderlich machte.

Aus weiteren, früheren Untersuchungen mit L-Arginin sind die im Folgenden aufgeführten Nebenwirkungen bekannt.

Dabei werden generell folgende Häufigkeitsangaben bei der Angabe von Nebenwirkungen verwendet:

Sehr häufig	mehr als 10%	(1 von 10 Patienten)
Häufig	1% bis 10%	(1 von 10 bis 1 von 100 Patienten)
Gelegentlich	weniger als 1%	(weniger als 1 von 100 Patienten)
Selten	weniger als 0,1%	(weniger als 1 von 1.000 Patienten)
Sehr selten	weniger als 0,01%	(weniger als 1 von 10.000 Patienten)

L-Arginin wurde bei oraler, intravenöser oder intraarterieller Gabe in Dosierungen bis 30 g / Tag generell gut vertragen. Bei Infusion hoher Dosierungen kann gelegentlich (in weniger als 1%) es zu lokalen Reizungen der Venenwand kommen. Die gefäßerweiternde Wirkung von L-Arginin kann selten (in weniger als 0,1%) zu Blutdruckabfall, verbunden mit Schwindel, führen. Der blutdrucksenkende Effekt von L-Arginin ist allerdings minimal.

Allergische Reaktionen können – wie bei allen anderen Substanzen – sehr selten auftreten; dies ist nicht vorhersehbar.

Die Einnahme von L-Arginin als Tabletten oder Kapseln kann Übelkeit und Erbrechen hervorrufen; die Häufigkeit dieser Nebenwirkung wird mit 3% angegeben.

Bauchkrämpfe und Blähungen wurden gelegentlich bei Patienten mit Mukoviszidose beobachtet, die L-Arginin einnahmen, nicht jedoch bei Gesunden.

In Deutschland ist orales L-Arginin derzeit auf dem Markt verfügbar; in den USA wird L-Arginin u.a. in der Form eines „Müsliriegels“ verkauft. In der zu diesem Produkt herausgegebenen Produktinformation heißt es: „In den über zwei Jahre durchgeführten klinischen Studien mit dem L-Arginin-Riegel traten keine schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse auf. Leichtere Nebenwirkungen waren selten und betrafen Übelkeit und andere Unverträglichkeitserscheinungen des Magen-Darm-Traktes (Blähungen, „Darm-Rumoren“, weicher Stuhlgang). Allerdings waren diese Nebenwirkungen in der Plazebo-Gruppe ebenso häufig. Ein Patient berichtete über Mundtrockenheit.“

Für L-Citrullin sind keine spezifischen Nebenwirkungen bekannt. Da L-Citrullin nach der Einnahme rasch zu L-Arginin umgewandelt wird, können jedoch im Prinzip dieselben unerwünschten Effekte auftreten wie oben für L-Arginin beschrieben. Daneben besteht sowohl für L-Arginin wie auch für L-Citrullin das prinzipielle Risiko allergischer Erscheinungen, wie sie bei jeder Einnahme von Fremdstoffen möglich sind. Aufgrund der Tatsache, dass sowohl L-Arginin als auch L-Citrullin in unserem Körper natürlich vorkommende Moleküle sind, sind solche allergischen Erscheinungen zwar sehr selten, aber nicht auszuschließen. Allergische Erscheinungen können sich als

Hautrötung und –jucken bemerkbar machen, aber auch mit Blutdruckabfall, Schwindel und Atemnot einhergehen. Sollten Sie entsprechende Symptome bemerken, suchen Sie bitte sofort Ihren Arzt auf.

Neben den möglichen Risiken der Prüfsubstanzen bestehen Risiken aufgrund der für diese Studie erforderlichen Blutentnahmen. Diese werden im Regelfall im Rahmen einer ohnehin aus klinischen Erfordernissen erfolgenden Punktion einer Armvene, es ist allerdings auch möglich, dass aus Gründen dieser Studie eine gesonderte Blutentnahme erfolgen muss. Bei der Blutentnahme aus einer Armvene kann es zu einer (meist) geringen Nachblutung kommen, z.B. mit der Bildung eines „blauen Flecks“ (Hämatom). Dieses wird in der Regel innerhalb weniger Tage von selbst verschwinden. Ebenso kann es in seltenen Fällen passieren, dass während der Venenpunktion ein kleiner Hautnervenast verletzt wird, welches zu Schmerzen und evtl. Gefühlsminderung in einem umschriebenen Bereich um die Punktionsstelle führen kann. Sollten Sie den Eindruck haben, dass Sie ungewöhnlich starke Beschwerden an der Punktionsstelle verspüren, so sollten Sie umgehend Ihre Prüffärzte kontaktieren und um Kontrolle bitten. Dazu sind wir jederzeit gern bereit.

### **Habe ich einen Nutzen von der Teilnahme an der Studie?**

Es ist uns wichtig, Sie darauf hinzuweisen, dass Sie persönlich von dieser Studie möglicherweise nicht profitieren werden. Bevor wir unsere Messergebnisse für eine Vorhersage nutzen können, muss das Ergebnis dieser Studie zunächst abgewartet werden. Allerdings ist zu erwarten, dass bei positivem Ausgang zukünftig Patienten, bei denen ein erhöhtes Risiko für eine Komplikation des Herz-Kreislaufsystems in Zusammenhang mit einer Operation besteht, leichter erkannt werden können. Das wird es ermöglichen, diese Patienten besonders sorgfältig zu überwachen und ggf. prophylaktisch zu behandeln, um ihr Risiko zu minimieren.

Wir wissen heute, dass der Botenstoff ADMA durch ein DDAH genanntes Eiweiß im Körper abgebaut wird. Indizien deuten darauf hin, dass Veränderungen dieses Eiweißes zu erhöhten Konzentrationen von ADMA im Blutplasma führen können. Solche Veränderungen wurden zum Beispiel aufgrund genetischer Veränderungen in dem Gen, das für das Eiweiß DDAH „verantwortlich ist“, beschrieben. Mit aufwändigen Laboruntersuchungen ist es möglich, eine solche genetische Veränderung des DDAH-Gens zu erfassen und so den Zusammenhang zwischen genetischer Veranlagung und erhöhter Botenstoff-Konzentration im Blutplasma einerseits\_ sowie dem Operations-bedingten Herz- und Kreislaufisiko zu untersuchen. Dies trägt zum besseren Verständnis der Ursachen für solche Komplikationen bei. Die Aufnahme von L-Arginin in die Zellen des Körpers wird durch ein anderes Molekül, das als  $y^+$ -Transporter bezeichnet wird, vermittelt. Genetisch bedingte Änderungen im Gen für diesen Transporter können die Wirkung einer Einnahme von L-Arginin beeinflussen.

Obwohl in der Öffentlichkeit viel über sog. „Gentests“ diskutiert und spekuliert wird, werden Untersuchungen solcher genetischer Veränderungen noch nicht routinemäßig vorgenommen. Wir glauben jedoch, dass ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen genetischer Veränderungen in diesem Enzym DDAH bzw. dem  $y^+$ -Transporter, der Wirkung einer L-Arginin-Einnahme und dem Auftreten von Herz-Kreislaufkomplikationen nach größeren chirurgischen Eingriffen bestehen könnte. Deshalb wollen wir das Vorliegen von Polymorphismen der genannten Gene in ihrer Blutprobe ebenfalls untersuchen.

Für die geplante Studie werden Sie gebeten, im Rahmen der Routineblutentnahme vor der Operation zwei zusätzliche Blutröhrchen zur Verfügung zu stellen. Ferner werden wir Sie auch am Morgen der Operation, am Tag nach der Operation sowie drei Tage später um weitere Blutproben (jeweils 3 ml) bitten. In diesen Blutproben führen wir dann im Labor der Abteilung für Pharmakologie des UKE die Bestimmung des Botenstoffes ADMA und die beschriebenen genetischen Analysen durch. Bis zur Entlassung aus der stationären Behandlung werden wir aus den Krankenakten Informationen über den postoperativen Verlauf Ihrer Genesung dokumentieren. Dreißig Tage nach Ihrer Operation werden wir Sie kurz telefonisch nach Ihrem Befinden befragen. Wir werden aus Gründen dieser Studie keine darüber hinausgehenden Untersuchungen an Ihnen durchführen; alle möglicherweise notwendig werdenden diagnostischen oder therapeutischen Maßnahmen werden sich allein aus der medizinischen Notwendigkeit je nach Ihrem persönlichen Befinden ergeben; diese Maßnahmen werden von uns lediglich dokumentiert und anschließend in pseudonymisierter Form ausgewertet.

Falls Sie Fragen zu diesem Forschungsprojekt haben oder Informationen über Ihre Untersuchungsergebnisse erhalten möchten, so wenden Sie sich bitte an den Sie behandelnden Narkose-Arzt unter der im Briefkopf genannten Telefonnummer oder unter der Telefon-Nummer (040) 7410-59759 an den Leiter dieser Studie im Pharmakologischen Institut des UKE (Prof. Dr. Rainer Böger).

### **Was geschieht mit meinen persönlichen Daten?**

Sämtliche personenbezogenen Daten und Informationen werden ausschließlich in der Klinik gespeichert, in der Sie sich behandeln lassen. Hier haben nur die unmittelbar in die Behandlung involvierten Ärzte sowie die Ihnen bekannten Studienärzte (Dr. Appel im UKE, Frau Danel und Herr Dr. Detsch in der Asklepios Klinik Nord) Zugriff. Die Übertragung von Daten zur gemeinsamen Auswertung der Studie im UKE erfolgt nur in pseudonymisierter Form. Unter Pseudonymisierung versteht man die Unkenntlichmachung der Person, zu der die Daten oder Proben gehören, z.B. durch

Verwendung einer fortlaufenden Nummer für alle Teilnehmer der Studie. Die oben genannten Prüfarzte der jeweiligen Kliniken werden im Besitz der Codierungsliste sein und für neu eingeschlossene Patienten pseudonymisierte Codes (fortlaufende Studiennummern ohne Bezug auf Patientennamen oder Geburtsdatum) vergeben. Studienbedingte Blutproben sowie alle elektronischen Aufzeichnungen werden nur in pseudonymisierter Form aus der jeweiligen anästhesiologischen Klinik herausgegeben und zur Auswertung im Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie des UKE herangezogen. Die Codierungsliste verbleibt unter Verschluss in der jeweiligen Klinik für Anästhesiologie.

Ferner weisen wir Sie darauf hin, dass die gesammelten Daten für einen Zeitraum von 10 Jahren in anonymisierter Form archiviert werden, bevor sie vernichtet werden.

Die von Ihnen erhobenen Daten werden ausschließlich zum Zweck der Durchführung der Studie gespeichert und ausgewertet. Alle persönlichen Angaben, die Sie uns gegenüber machen, unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und werden nur in pseudonymisierter Form weitergegeben. Die Regelungen des Datenschutzgesetzes werden eingehalten.

Ihre Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen von der Teilnahme an der Studie zurücktreten. Dies hat keinen Einfluss auf Ihre weitere medizinische Versorgung.

Wir weisen ausdrücklich darauf hin, dass andere als die hier beschriebenen genetischen Untersuchungen nicht durchgeführt werden. Auf Ihr Verlangen hin werden wir das Genmaterial jederzeit und vollständig vernichten, unabhängig davon, ob die vorgesehenen Untersuchungen bereits durchgeführt wurden oder nicht. Nach Abschluss der beschriebenen Untersuchungen werden wir das genetische Material in jedem Fall vernichten, so dass keine weiteren Untersuchungen damit möglich sein werden.

## 10.1.2 Einverständniserklärung



Universitätsklinikum  
Hamburg-Eppendorf

Institut für Experimentelle und  
Klinische Pharmakologie und  
Toxikologie

Abteilung für Pharmakologie  
- Klinische Pharmakologie -  
Prof. Dr. Rainer H. Böger

Martinistrasse 52  
20246 Hamburg  
Telefon: (040) 7410-59759  
Telefax: (040) 7410-59757  
boeger@uke.uni-hamburg.de  
www.uke.uni-hamburg.de

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf Martinistrasse 52 20246 Hamburg

### Einverständniserklärung

» Wirkung einer oralen Supplementierung mit L-Arginin auf das perioperative Risiko bei elektiven abdominalen oder thorakalen Eingriffen – Bedeutung des präoperativen ADMA-Plasmaspiegels als perioperativer Risikomarker. «  
(UKE-KP 2009/001)

Herr/ Frau Dr. med. \_\_\_\_\_ (Name des aufklärenden Arztes/Ärztin) hat mich vollständig über das Wesen und die Bedeutung der geplanten Studie aufgeklärt. Ich konnte dabei alle mich interessierenden Fragen stellen. Ferner hatte ich Gelegenheit, das Aufklärungsblatt genau durchzulesen und auch dazu Fragen zu stellen. Ein Exemplar der Aufklärung/Einwilligung ist mir zum Verbleib ausgehändigt worden.

Ich weiß, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angaben von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir daraus Nachteile bezüglich einer laufenden oder zukünftigen Behandlung entstehen.

Ich weiß, dass die im Rahmen der Studie erhobenen Daten und persönlichen Mitteilungen der ärztlichen Schweigepflicht unterliegen und zur Auswertung nur ohne meinen Namen (pseudonymisiert) zusammengeführt werden. Die geplanten genetischen Analysen dienen ausschließlich der wissenschaftlichen Untersuchung möglicher zellbiologischer Ursachen veränderter Konzentrationen des körpereigenen Botenstoffes ADMA sowie der Erfassung eines möglichen genetisch determinierten Risikos im Zusammenhang mit der Einnahme von L-Arginin. Darüber hinausgehende Genanalysen werden nicht durchgeführt.

Zugleich erkläre ich, dass ich mit der im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten einverstanden bin.

Mit der vorgeschlagenen genetischen Analyse (DDAH-Gen) bin ich  einverstanden  
 nicht einverstanden.

Ich bestätige durch meine Unterschrift, dass ich die Aufklärung verstanden habe und mich mit der Durchführung der vorgenannten Studie einverstanden erkläre.

Hamburg, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des aufklärenden Arztes

Hamburg, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Studienteilnehmers

## 10.2 Präoperativer Erhebungsbogen

»Effekte einer oralen Einnahme der Aminosäure L-Arginin  
auf das perioperative Risiko bei nicht-selektierten  
Patienten –  
Einfluss der präoperativen ADMA-Messung für die  
therapeutische Stratifizierung.«  
(UKE-KP 2009/001)

### Präoperativer Evaluationsbogen

#### Stammdatensatz

PAT-ID [_____]	Patienten-Initialen [__--__]
Einschluss in die Studie	Datum [_____] TTMMJJ
Geboren	[_____] TTMMJJJJ
Alter	[_____] Jahre
Geschlecht	m <input type="checkbox"/> w <input type="checkbox"/>
Körpergröße	[_____] cm
BMI	[_____] (kg/m <sup>2</sup> )
Gewicht	[_____] kg
Allergien	nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> Welche: _____
Medikamentenunverträglichkeiten	nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> Welche: _____
Blutdruck sitzend	[_____/_____] mmHg
Herzfrequenz in Ruhe	[_____] Schläge pro min

Stammdatensatz





### Kumuliertes Risiko

ASA-Klassifikation laut Protokoll [\_\_\_\_\_]

Revised Cardiac Index nach Lee [\_\_\_\_\_]

Zahl der Beschwerdefreien Stockwerke Treppen 0 , 1 , 2 , 3  oder  $\geq 4$

Tage pro Woche mit mindestens 30 min Sport [\_\_\_\_], nicht beurteilbar (Behinderung etc.)

Metabolische Äquivalente [\_\_\_\_\_]

### Familiäre Vorbelastung mit KHK (1) und/oder Insult (2) und/oder Embolie (3):

unbekannt  nein  ja

Mutter [ ][ ][ ] Vater [ ][ ][ ]

Geschwister [m/w]-[ ][ ][ ]

[ ][ ][ ][ ], [ ][ ][ ][ ], [ ][ ][ ][ ][ ], [ ][ ][ ][ ][ ], [ ][ ][ ][ ][ ], [ ][ ][ ][ ][ ]

Großvater -Mutter [ ][ ][ ][ ] -Vater [ ][ ][ ][ ] Großmutter -Mutter [ ][ ][ ][ ] -Vater [ ][ ][ ][ ]

---

Sonstige Erkrankungen:

Bemerkungen:

---

Ort, Datum

---

Unterschrift Prüfarzt

Risiko-Indizes

Familienanamnese

Sonstiges



**Datum:** \_\_\_\_\_ **1. postoperativer Tag**

PAT-ID [\_\_\_\_\_]

Patienten-Initialen [\_\_--\_\_]

**Sind seit der Operation eine oder mehrere der folgenden Symptomkomplexe oder Komplikationen aufgetreten?**

- |                                 |                               |  |
|---------------------------------|-------------------------------|--|
| Angina Pectoris                 | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Myokardinfarkt                  | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| dekompensierte Herzinsuffizienz | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Herzstillstand                  | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Insult                          | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Thrombose                       | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
|                                 |                               | welches Gefäß:                                 |
| Lungenembolie                   | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Tod                             | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |

**nach der Komplikation erfolgte Maßnahmen und Therapien:**

---

---

---

---

**Medikation seit der OP:**

Medikamentöse Therapie aktuell (Medikament - Dosis - Gaben pro Tag):

---

---

---

---

**Datum:** \_\_\_\_\_ **3. postoperativer**  
**Tag**

PAT-ID [\_\_\_\_\_]

Patienten-Initialen [\_\_--\_\_]

**Sind seit der Operation eine oder mehrere der folgenden Symptomkomplexe oder Komplikationen aufgetreten?**

Angina Pectoris	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ
Myokardinfarkt	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ
dekompensierte		
Herzinsuffizienz	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ
Herzstillstand	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ
Insult	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ
Thrombose	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ
		welches Gefäß:
Lungenembolie	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ
Tod	nein <input type="checkbox"/>	ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ

**nach der Komplikation erfolgte Maßnahmen und Therapien:**

---

---

---

---

---

---

---

---

**Medikation seit der OP:**

Medikamentöse Therapie aktuell (Medikament - Dosis - Gaben pro Tag):

---

---

---

**Datum:** \_\_\_\_\_ **30. postoperativer**  
**Tag**

PAT-ID [\_\_\_\_\_]

Patienten-Initialen [\_\_--\_\_]

**Sind seit der Operation eine oder mehrere der folgenden Symptomkomplexe oder Komplikationen aufgetreten?**

- |                  |                               |  |
|------------------|-------------------------------|--|
| Angina Pectoris  | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Myokardinfarkt   | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| dekompensierte   |                               |  |
| Herzinsuffizienz | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Herzstillstand   | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Insult           | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Thrombose        | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
|                  |                               | welches Gefäß:                                 |
| Lungenembolie    | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |
| Tod              | nein <input type="checkbox"/> | ja <input type="checkbox"/> wann [_____]DDMMJJ |

**nach der Komplikation erfolgte Maßnahmen und Therapien:**

---

---

---

---

**Medikation seit der OP:**

Medikamentöse Therapie aktuell (Medikament - Dosis - Gaben pro Tag):

---

## 11 Materialien

### 11.1 Reagenzien

[2H6]-ADMA	Eigene Herstellung
L-[2H7]-Arginin	Eurisotop, Saint-Aubin Cedex, Frankreich
[13C6]-Homoarginin	Eigene Herstellung
L-[2H6]-NMMA	Eigene Herstellung
Acetylchlorid	Sigma-Aldrich, München
Ameisensäure	Merck (Darmstadt)
Ammoniak	Merck (Darmstadt)
Aqua ad injectabilia	Baxter, Unterschleißheim
Butanol	Sigma-Aldrich, München
Methanol	Merck (Darmstadt)
Wasser, gradient grade	Fa. Baker, Griesheim, Deutschland
Butanolische Salzsäure	Eigene Herstellung
Methanol/Wasser 50:50, pH 5 (gepuffert mit HCOOH/NH <sub>3</sub> )	

#### 11.1.1 Lösungen und Puffer für die ADMA-Messung:

interner Standard LC-MS/MS

- 0,5 µmol/L [2H6]-ADMA
- 0,25 µmol/L L-[2H6]-NMMA
- 2,5 µmol/L [13C6]-Homoarginin
- 12,5 µmol/L L-[2H7]-Arginin
- in Methanol

1 N butanolische HCL

- 10% (v/v) Acetylchlorid
- ad 1 L Butanol

Probenpuffer, pH 5

- 50% (v/v) Methanol
- 50% (v/v) dest. Wasser
- pH-Einstellung mit HCOOH/NH<sub>3</sub>

**11.2 Verbrauchsmaterialien:**

96-Well-Polypropylenplatte	Greiner bio-one, Frickenhausen
Abdeckmatte	Sarstedt, Nümbrecht
Acetat-Klebefolie	Acetat-Klebefolie Sarstedt, Nümbrecht
Autosamplergefäße <ul style="list-style-type: none"> <li>• mit Bördelverschluss</li> <li>• mit Schraubverschluss</li> </ul>	Varian, Darmstadt
Butterfly	Braun, Melsungen
EDTA-Monovetten	Sarstedt, Nümbrecht
Eppendorf Tubes 0,5; 1,5; 2ml	Eppendorf AG, Hamburg
Falcon-Röhrchen (15, 50 mL)	Sarstedt, Nümbrecht
MultiScreen 96-Well-Filterplatte	Millipore, Molsheim, Frankreich
Pasteur Pipetten	Brand, Wertheim
Pipetten 10, 100, 1000 µL	Eppendorf AG, Hamburg
Pipettenspitzen	Sarstedt, Nümbrecht
Stauschlauch	Braun, Melsungen

**11.3 Geräte:**

LC-MS/MS (1200L Triple Quadrupole MS)	Varian, Darmstadt
Orbital-Schüttler Duomax 1030	Heidolph Instruments, Schwabach
Polaris C18-Ether (50x2 mm)	Varian, Darmstadt
Prostar Autosampler	Varian, Darmstadt
Thermoblock dry bath FB 15103	Fisher Scientific, Illkirch, Frankreich
Tischzentrifuge, MC6	Eppendorf AG, Hamburg
Vortexer Reax Control	Heidolph Instruments, Schwabach
Zentrifuge, Centrifuge 5415R, 5415D	Eppendorf AG, Hamburg

## 12 Danksagung

Herrn Prof. Dr. R. Böger danke ich für die Möglichkeit dieses Thema unter seiner Leitung durchführen zu dürfen sowie fortwährende Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Daniel Appel, der mir stets selbstlos mit Rat und Tat sowie ermutigenden Worten zur Seite stand. Ohne seine Hilfe wäre diese Arbeit nicht zu Stande gekommen.

Allen Mitgliedern des Institutes danke ich für das angenehme Arbeitsklima und ihre Hilfsbereitschaft. Dabei danke ich stellvertretend besonders Anna Steenpas, Mariola Kastner und Edzard Schwedhelm, die mir bei der Durchführung der Versuche stets beratend zur Seite standen.

Darüber hinaus gilt mein Dank für die Patientenrekrutierung und die Sammlung der Blutproben Herrn Prof. Dr. Alwin Goetz und Herrn Prof. Dr. Christian Zöllner sowie dem gesamten Team der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Operativen Intensivmedizin des UKE.

Des Weiteren bedanke ich mich bei der zentralen Blutentnahme für die zahlreichen Blutproben, die dort für uns entnommen wurden.

Ich möchte mich ebenfalls bei den Ärzten und Pflegekräften der IMC und ICU sowie der Normalstationen (3E, 3F, 3G, 3H, 4F, 4H, 4E und 5C) für ihre Kooperation bedanken.

Für die statistische Auswertung möchte ich bei Herrn Jan Kersten, Frau Nicole Lüneburg und Dr. Daniel Appel bedanken.

Einen großen Dank verdient ebenfalls Frau Dr. Gina Gutsche für die vertrauensvolle Zusammenarbeit und gegenseitige Unterstützung.

Außerdem möchte ich mich bei meiner Familie, insbesondere bei meiner Mutter, für ihr Vertrauen und die bedingungslose Liebe bedanken.

Ein großer Dank darüber hinaus gilt meinem Freund und Lebensgefährten, Joscha Hornig, der mich bis zuletzt uneingeschränkt unterstützt und fortwährend motiviert hat.

## **13 Tabellarischer Lebenslauf**

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

## **14 Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig 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.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....