

Diplomarbeit

**Endotheliale Dysfunktion und
L-Arginin/ADMA Ratio
bei Patienten mit aggressiver Parodontitis**

eingereicht von
Christoph König
0433327

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)
an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der
**Universitätsklinik für Innere Medizin,
Klinische Abteilung für Angiologie**

unter der Anleitung von
ao. Univ.-Prof. Dr. Gerald Seinost

Ort, Datum

Unterschrift

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Datum

Unterschrift

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich ganz besonders bei meinem Betreuer Herrn Univ.-Prof. Dr. Gerald Seinost bedanken, der mir diese Arbeit ermöglicht hat und mich mit Rat und Tat stets bestens unterstützt hat.

Ein großes Dankeschön geht auch an Herrn Priv.-Doz. Dr. Andreas Meinitzer für seine freundliche Hilfe bei der Labordiagnostik.

Mein großer Dank gilt vor allem auch meiner Familie, auf die ich mich während meines gesamten Studiums immer verlassen konnte.

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	1
ABSTRACT	3
BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN	5
Asymmetrisches Dimethylarginin	5
Methylierte Arginine	5
Aufbau/Entstehung von ADMA	6
Abbau/Metabolisation von ADMA	8
ADMA im Organismus	10
Biologische Effekte von ADMA	11
Die Aminosäure Arginin	14
Aufbau/Entstehung von Arginin	15
Abbau/Metabolisation von Arginin	17
Arginin im Organismus/Biologische Effekte	21
ALLGEMEINE GRUNDLAGEN	23
Endotheliale Dysfunktion	23
Normale Funktion des Endothels	24
Klinische Bedeutung der endothelialen Dysfunktion	25
<i>Assoziation von endothelialer Dysfunktion und kardiovaskulären</i>	
<i>Risikofaktoren</i>	25
<i>Endotheliale Dysfunktion als prognostischer Marker</i>	27
<i>Beeinflussung der endothelialen Dysfunktion</i>	28
Messung der endothelialen Dysfunktion	31
Parodontitis	33
Epidemiologie der Parodontitis	33
Ätiologie der Parodontitis	36
Pathogenese der Parodontitis	37
Therapie der Parodontitis	39
HINTERGRUND DER DIPLOMARBEIT	41

METHODEN.....	42
Patienten	42
Parodontale Therapie	43
Messung der endothelialen Funktion	44
Laborchemische Analysen.....	45
Statistische Analysen	45
ERGEBNISSE	46
Parodontitispatienten vs. Kontrollgruppe	46
Parodontitispatienten vs. Follow up	46
Arginin/ADMA – Ratio und endotheliale Funktion	49
DISKUSSION	50
Schlussfolgerung	53
Literaturverzeichnis.....	54
Abbildungsverzeichnis.....	59
Tabellenverzeichnis.....	60

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund

Epidemiologische Daten unterstützen die Hypothese, dass ein mangelhafter oraler Gesundheitszustand und Zahnverlust mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergehen. Parodontitis steht in Zusammenhang mit endothelialer Dysfunktion und eine parodontale Therapie verbessert die endotheliale Dysfunktion bei Patienten mit schwerer Parodontitis. Die Mechanismen mit denen Parodontitis die endotheliale Funktion beeinträchtigt sind im Wesentlichen noch unbekannt. Das Ziel dieser Studie ist es zu klären, ob veränderte Konzentrationen von L – Arginin und dem endogenen NO – Synthase Hemmer ADMA an der Verminderung der endothelialen Funktion von Patienten mit schwerer Parodontitis beteiligt sind.

Methoden

Patienten mit schwerer Parodontitis waren für die Teilnahme an der Studie geeignet. Gesunde Freiwillige vergleichbar in Alter und Geschlecht dienten als Kontrollen. Die Plasma – Konzentrationen von L - Arginin und ADMA wurden zu Beginn der Studie gemessen und ebenfalls 3 Monate nach einer erfolgreichen Therapie der Parodontitis. Die Behandlung der schweren Parodontitis umfasste beides, manuelle und pharmakologische Therapie, in Übereinstimmung mit publizierten Richtlinien.

Resultate

Die L – Arginin Konzentrationen der Patienten mit schwerer Parodontitis waren vor der Therapie im Vergleich zu den gesunden Kontrollen signifikant vermindert ($70.3 \mu\text{mol/l} \pm 13.4$ vs. $79.4 \mu\text{mol/l} \pm 19.7$; $p = 0.04$). Die ADMA Konzentrationen waren zu Beginn der Studie in beiden Gruppen ähnlich ($0.65 \mu\text{mol/l} \pm 0.08$ bei Patienten mit Parodontitis vs. $0.64 \mu\text{mol/l} \pm 0.08$ bei der Kontrollgruppe; $p = 0.56$). Die L – Arginin/ADMA Ratio war in der Gruppe der Parodontitispatienten niedriger (109.3 ± 20.9 vs. 126.1 ± 32.5 ; $p = 0.02$). In der Regressionsanalyse mit HDL, Alter, Body Mass Index, Nikotinkonsum und Geschlecht als unabhängigen Variablen

blieb die Differenz der Arginin/ADMA – Ratio zwischen Patienten und Kontrollen signifikant. 3 Monate nach der Behandlung stiegen die L – Arginin Konzentration und die Arginin/ADMA – Ratio signifikant an (von $70.6 \mu\text{mol/l} \pm 13.5$ auf $87.8 \mu\text{mol/l} \pm 15.7$; $p < 0.01$ bei L - Arginin und von 109.3 ± 21.3 auf 143.9 ± 27.9 ; $p < 0.01$ bei der L - Arginin/ADMA Ratio). Die ADMA Konzentrationen fielen signifikant von $0.65 \mu\text{mol/l} \pm 0.08$ auf $0.62 \mu\text{mol/l} \pm 0.08$; $p = 0.01$ ab.

Schlussfolgerung

Eine Behandlung von schwerer Parodontitis reduziert die ADMA Konzentration im Blut und erhöht die L – Arginin Konzentration und die Arginin/ADMA – Ratio, was möglicherweise zu einer Verbesserung der endothelialen Dysfunktion führt.

ABSTRACT

Purpose

Epidemiologic data support the hypothesis that poor oral health and tooth loss increase the risk for cardiovascular disease. Periodontitis has been associated with endothelial dysfunction and periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis. The mechanisms by which periodontal disease impairs endothelial function are not well understood. The purpose of study was to elucidate if altered concentrations of L-arginine and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA may contribute to vascular impairment in patients with severe periodontitis.

Methods

Patients with severe periodontitis were eligible for participation in the study. Healthy volunteers matched for age and sex served as controls. Plasma concentrations of L-arginine and ADMA were studied at baseline and three months after successful treatment of periodontitis. Severe periodontitis was treated including both mechanical and pharmacological therapy according to published guidelines.

Results

L-arginine concentrations were significantly lower in patients with periodontal disease before treatment when compared to healthy controls ($70.3 \mu\text{mol/l} \pm 13.4$ vs. $79.4 \mu\text{mol/l} \pm 19.7$; $p = 0.04$). ADMA concentrations were similar in both groups at baseline ($0.65 \mu\text{mol/l} \pm 0.08$ in patients with periodontitis vs. $0.64 \mu\text{mol/l} \pm 0.08$ in controls; $p = 0.56$). The L-arginine/ADMA ratio was lower in patients with periodontal disease (109.3 ± 20.9 vs. 126.1 ± 32.5 ; $p = 0.02$). On regression analysis using age, sex, smoking status, BMI and HDL-C as covariates the difference of the L-arginine/ADMA ratio in patients and controls remained significant.

Three months after treatment L-arginine concentrations and the L-arginine/ADMA ratio significantly increased (from 70.6 $\mu\text{mol/l} \pm 13.5$ to 87.8 $\mu\text{mol/l} \pm 15.7$; $p < 0.01$ for L-arginine and from 109.3 ± 21.3 to 143.9 ± 27.9 ; $p < 0.01$ for L-arginine/ADMA ratio). ADMA concentrations significantly decreased from 0.65 $\mu\text{mol/l} \pm 0.08$ to 0.62 $\mu\text{mol/l} \pm 0.08$; $p = 0.01$.

Conclusions

Treatment of severe periodontitis reduces ADMA concentrations and increases L-arginine concentrations and the L-arginine/ADMA ratio which may contribute to improvement of endothelial dysfunction.

BIOCHEMISCHE GRUNDLAGEN

Asymmetrisches Dimethylarginin

Asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) ist eine methylierte Aminosäure, die im Blutplasma, auch bei gesunden Patienten in geringer Konzentration, nachweisbar ist. Das Molekül ist seit Anfang der neunziger Jahre Gegenstand zahlreicher wissenschaftlicher Studien, wegen seines Einflusses auf die Regulation des vaskulären Systems, wo es als endogener Inhibitor der NO – Synthase (NOS) wirkt und damit die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) hemmt. Folglich kommt es zu einer mangelnden Wirkung des potenten Vasodilatators NO, was wiederum durch Effekte wie Vasokonstriktion, Blutdruckanstieg und endothelialer Dysfunktion zu einem erhöhten kardiovaskulären Risiko führt.¹

Methylierte Arginine

Man unterscheidet bei den Methylargininen 3 Typen:

- N^G Monomethylarginin (L-NMMA)
- N^GN^G Dimethylarginin (Asymmetrisches Dimethylarginin, ADMA)
- N^GN^G Dimethylarginin (Symmetrisches Dimethylarginin, SDMA)

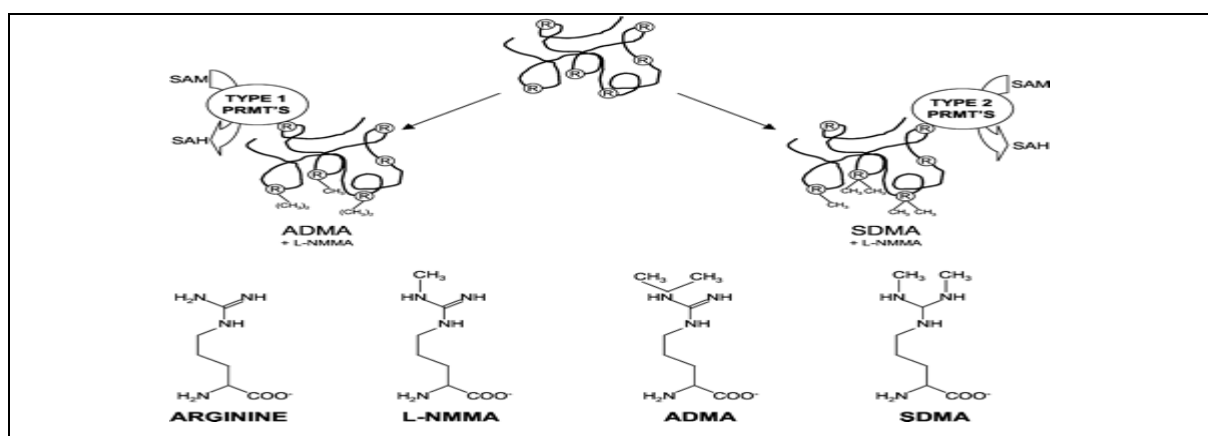


Abbildung 1 Die Aminosäure Arginin und die 3 Formen der methylierten Arginine. Die PRMT Typ 1 bildet L-NMMA und ADMA während die PRMT Typ 2 L-NMMA und SDMA bildet. (2)

Die methylierten L – Arginin Analoga unterscheiden sich wesentlich in ihrem biologischen Effekt auf die NO – Synthase. Während SDMA keinen Einfluss auf das Enzym hat, sind die beiden anderen Subtypen kompetitive Hemmer der NOS.³

Aufbau/Entstehung von ADMA

Durch Proteinargininmethyltransferasen (PRMT) kommt es zur Methylierung von der, in der Struktur von Proteinen integrierten, Aminosäure Arginin. Die Methylierung von freiem, nicht proteinständigem, Arginin konnte bisher noch nicht nachgewiesen werden.² Proteinmethylierungen sind posttranskriptionelle Vorgänge, die in allen Zellen vorkommen und deren Funktion bis jetzt noch nicht gänzlich geklärt werden konnte. Sehr wahrscheinlich spielt die Methylierung der Proteine, die meist im Nukleus lokalisiert sind, eine Rolle in der Regulation von RNA – Bindung, Transkription, DNA – Reparaturmechanismen, Rezeptoren – Recycling, Signaltransduktion und Protein – Protein Interaktionen. Proteine die häufig das Substrat für Methylierungen darstellen sind unter anderem Histone und RNA bindende Proteine wie heterogene nukleäre Ribonukleoproteine (hnRNP).³

Die für die Methylierung verantwortlichen PRMTs werden in 2 Gruppen unterteilt:

- Typ 1 PRMTs (PRMT 1,3,4,6,8)
- Typ 2 PRMTs (PRMT 5,7)
- (Obwohl ihre Aktivität wahrscheinlich dem Typ 1 entspricht, wurde die PRMT 2 bis jetzt noch keiner Gruppe zugeteilt, da sie noch nicht ausreichend untersucht wurde)

Ausschlaggebend für die Unterteilung in diese 2 Gruppen ist deren gesonderte enzymatische Funktion. Sowohl die Typ 1 wie auch die Typ 2 PRMTs können, durch Anlagerung von einer Methylgruppe an ein Stickstoffatom der Guanidin – Gruppe des Arginins, L – NMMA bilden. Allerdings können nur die PRMTs vom Typ 1 die Reaktion zur Bildung von ADMA katalysieren, welches 2 Methylgruppen an einem Stickstoffatom trägt. Durch die Typ 2 PRMTs wird hingegen SDMA durch Transfer von jeweils einer Methylgruppe auf beide Guanidin -

Stickstoffatome erzeugt. S – Adenosylmethionin stellt den Methylgruppendorfer für die Proteinmethylierung durch die PRMTs dar. Als Nebenprodukt dieser Reaktion entsteht S – Adenosylhomocystein, das eine Vorstufe von Homocystein ist. Es scheint ein enger Zusammenhang zwischen ADMA und Homocystein zu bestehen. So wurde von Lentz SR et al.⁴ in einer tierexperimentellen Studie ein Anstieg von ADMA und der Konzentration von Homocystein im Plasma und eine gleichzeitig verringerte L – Arginin/ADMA Ratio bei einer speziellen hyperhomocysteinämischen Diät nachgewiesen. Die Korrelation der Werte ist möglicherweise durch eine herabgesetzte Metabolisation von ADMA durch eine Hemmung des Enzyms Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase (DDAH) durch Homocystein bedingt. Eher unwahrscheinlich scheint jedoch eine durch Homocystein getriggerte erhöhte PRMT Aktivität zu sein.⁴

Kommt es nun zur Proteolyse eines methylierten Proteins, wird das entsprechende Methylarginin freigesetzt.

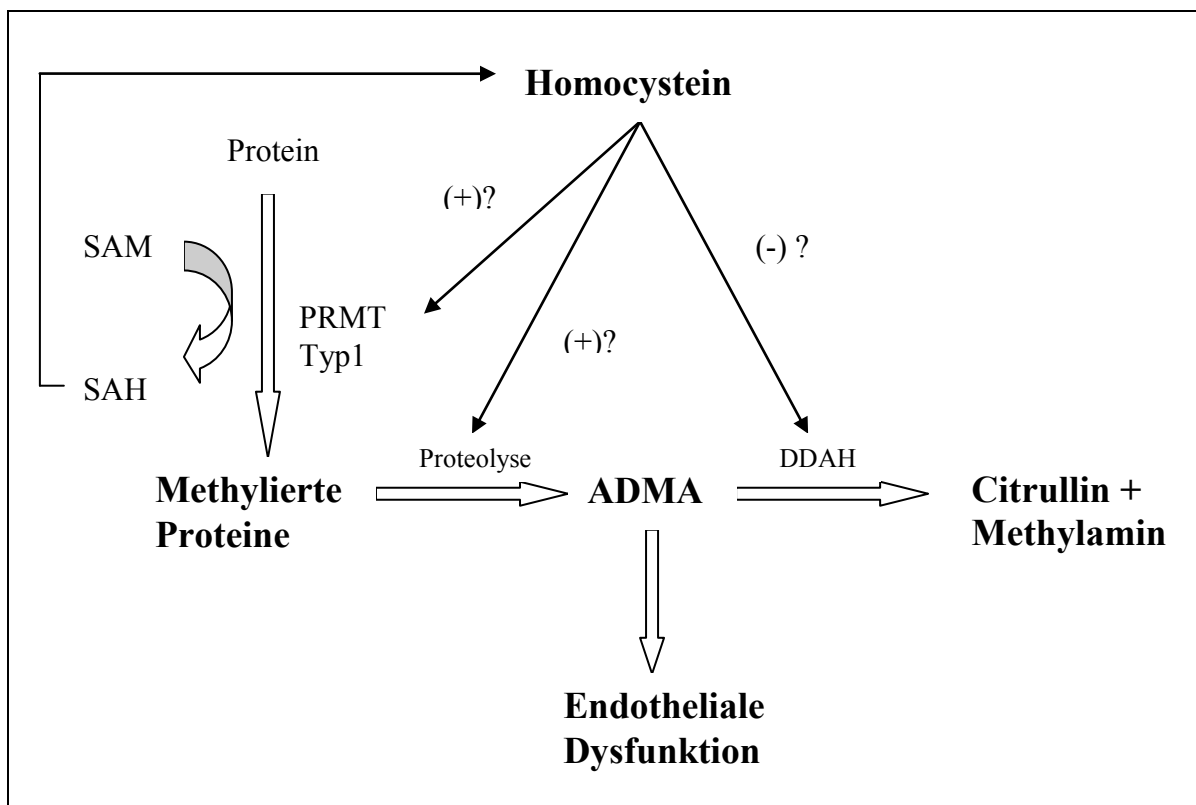


Abbildung 2 Zusammenhang zwischen ADMA und Homocystein. Proteine werden durch PRMT Typ 1 methyliert. Danach erfolgt die Freisetzung von ADMA durch Proteolyse von diesen. SAM (S-Adenosylmethionin) SAH (S-Adenosylhomocystein)

Abbau/Metabolisation von ADMA

Der Abbau von Methylargininen kann über folgende 3 Wege erfolgen:^{3,5}

- Renale Ausscheidung
- Transaminierung durch Dimethylarginin – Pyruvat – Aminotransferase
- Metabolisation durch DDAH zu Citrullin und Di – bzw. – Monomethylarginin

Die Ausscheidung von unveränderten Methylargininen über die Niere ist besonders für symmetrisches Dimethylarginin von Bedeutung. Während die beiden anderen Methylarginine nur zu einem sehr geringen Teil renal ausgeschieden werden, ist die Exkretion über die Niere der wichtigste Weg der SDMA – Elimination.²

Durch die Transaminierung von allen 3 methylierten Arginin Analoga durch die Dimethylarginin – Pyruvat – Aminotransferase, die wie viele andere Enzyme Pyruvat als Aminoakzeptor nutzt, entstehen die jeweils zugehörigen α – Ketosäuren.⁵

Neben den beiden oben genannten Mechanismen, die für die ADMA Ausscheidung nur eine untergeordnete Rolle spielen, gibt es noch die Möglichkeit des Katabolismus durch die Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase. Dieses Enzym ist für den Abbau des Großteils von ADMA zuständig und ist wahrscheinlich die wesentlichste Determinante, die Einfluss auf die gesamte ADMA Menge hat. Pro Tag werden in etwa 260 μmol (ca. 50 mg) von ADMA metabolisiert, während nur ca. 60 μmol im Harn ausgeschieden werden.² Als Substrat dienen ADMA und L – NMMA, aber nicht SDMA.⁶ Bei diesem Prozess wird ein ADMA Molekül in ein L – Citrullin Molekül und ein Dimethylamin Molekül hydrolytisch gespalten. Die DDAH hat zwei Isoformen die als DDAH 1 und DDAH 2 bezeichnet werden. Die DDAHs sind hauptsächlich zytoplasmatische Enzyme, die jedoch ein unterschiedliches Verteilungsmuster im Organismus haben. Die DDAH 1 kommt vor allem in Leber, Nieren, Pankreas, Aorta, neutrophilen Granulozyten und Makrophagen vor. Die Hauptstandorte der DDAH 2 sind das vaskuläre Endothel, Herz, Plazenta, die lymphatischen Organe und auch die Nieren.⁷ Das Gen für die DDAHs ist gut konserviert und das Enzym ist auch in

primitiven Organismen nachweisbar, was darauf hindeutet, dass es Überlebensvorteile in der Evolution darstellte.⁷ Für ihre Funktion benötigt die DDAH keine Co – Faktoren. Sie wird in ihrer Funktion aber durch Stickstoffmonoxid reguliert. Wesentlich ist dabei ein Cysteinmolekül der DDAH, das an seiner Thiolgruppe durch Stickstoffmonoxid nitrosyliert werden kann. Durch diese reversible S – Nitrosylierung kommt es bei hohen NO Spiegeln zu einer Inhibierung der DDAHs und damit zu einem ADMA Anstieg, was zu einer Art Homöostase zwischen ADMA und NO führt.²

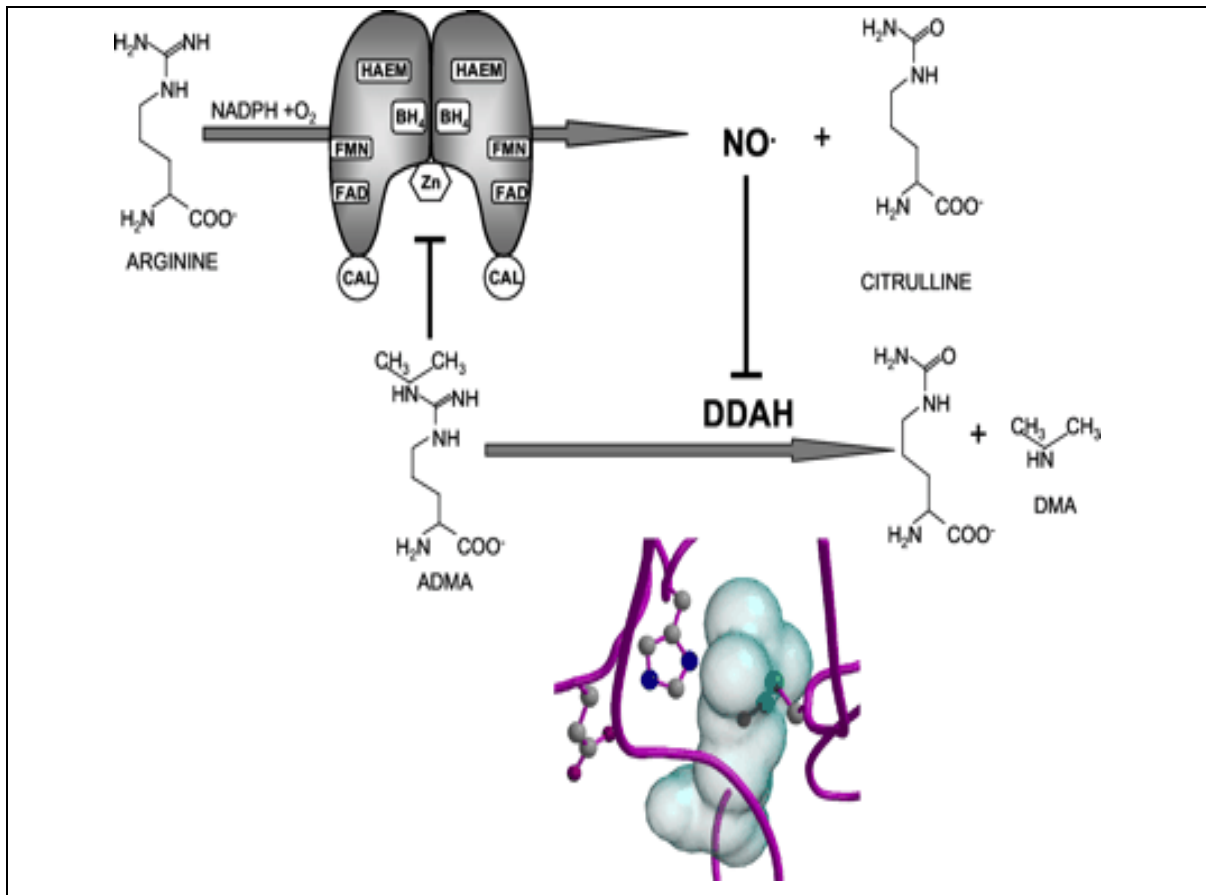


Abbildung 3 Arginin dient als Substrat für die NOS, welche daraus NO + Citrullin produziert. ADMA als Inhibitor der NOS wird wiederum von DDAH zu Citrullin + Dimethylamin (DMA) gespalten. Da NO aber die DDAH hemmt, kommt es gewissermaßen zu einer Homöostase zwischen NO und ADMA. (2)

ADMA im Organismus

Die ADMA Konzentration im Blutplasma beim Gesunden beträgt in etwa 1 $\mu\text{mol/l}$ und kann bei Patienten mit schwerer Atherosklerose bis zu 10fach erhöht sein. Weiters ist ADMA auch im Harn, im Liquor cerebrospinalis und im, durch bronchoalveoläre Lavage gewonnenen Material nachweisbar.⁸

Die Methylierung von Proteinen ist ein intrazellulärer Prozess und die Methylarginine werden durch die folgende Proteolyse im Zellinneren freigesetzt. Im Intrazellulärraum erfolgt auch die Metabolisation von ADMA durch die DDAHs zu L - Citrullin und Dimethylamin. Durch so genannte kationische Aminosäuren Transporter (KAT), über die auch L – Arginin transportiert wird, können die Methylarginine zwischen Extra – und Intrazellulärraum wechseln und so, nach Austritt aus einer Zelle, von einer anderen Zelle wieder aufgenommen werden.⁹ Es ist also möglich, dass ADMA aus einer bestimmten Zelle, in einer anderen Zelle zu einer Hemmung der NO – Synthese führt. Darum ist es denkbar, dass ADMA eine Transmitterfunktion zwischen verschiedenen Zellen, wie zum Beispiel zwischen glatten Muskelzellen und Endothelzellen in Gefäßen, erfüllt.²

Die wesentlichen Faktoren für die gesamte Menge an asymmetrischem Dimethylarginin sind also die Rate an Proteinmethylierungen durch die PRMTs, die Hydrolyse von diesen Proteinen und der Abbau von ADMA, hauptsächlich durch die DDAHs. Für die im Plasma messbaren Konzentrationen ist außerdem noch der ADMA - Shift zwischen dem Zellinneren und dem Extrazellulärraum von Bedeutung. Eine Veränderung dieser Faktoren führt zu Abweichungen im ADMA Stoffwechsel. So führt eine schlechte Nierenfunktion über eine verminderte renale Clearance zu einem leichten Anstieg der ADMA Konzentration und starkem Anstieg der SDMA Konzentration im Plasma, da die Exkretion über die Nieren für symmetrisches Dimethylarginin einen höheren Stellenwert einnimmt als für ADMA.²

Biologische Effekte von ADMA

Asymmetrisches Dimethylarginin ist ein endogener kompetitiver Hemmer von allen 3 Isoformen der Stickstoffmonoxid – Synthase. Dabei hat es eine stärkere Wirkung auf die endotheliale und die neuronale NOS als auf die induzierbare NO – Synthase. Durch diesen hemmenden Effekt kommt es zu verminderter Synthese von Stickstoffmonoxid, welches relevant an der Regulation der Endothelzellfunktion beteiligt ist.⁷ Obwohl auch L – NMMA ein Inhibitor der NO – Synthase ist, wird ADMA, da es in 10facher Konzentration im Plasma vorliegt, als primärer hemmender Faktor angenommen.¹⁰

Stickstoffmonoxid gilt als der stärkste Vasodilatator des Organismus und wird als Reaktion auf gesteigerten Blutfluss („shear stress“) der Gefäße freigesetzt. Durch die Aktivierung von löslicher Guanylatcyclase bewirkt es eine intrazelluläre Erhöhung von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP). Dies führt zu einer Senkung des intrazellulären Kalziumspiegels mit konsekutiver Gefäßrelaxation. Neben dem Effekt der Gefäßerweiterung kommt es durch NO zu einer verminderten Adhäsion von Leukozyten am Endothel, zu herabgesetzter Thrombozytenaggregation und zu Abnahme der Proliferation von glatten Muskelzellen in der Gefäßwand. All diese Faktoren dienen der Aufrechterhaltung eines regelrechten Blutflusses.⁸

Es wird vermutet, dass es durch L – NMMA und ADMA nicht nur zu einer verminderten NO Synthese kommt, sondern dass die NOS unter deren Einfluss auch reaktive Sauerstoffspezies bildet, welche die Verfügbarkeit von NO noch weiter verschlechtert.^{2,4,6}

Ein weiterer pathologischer Mechanismus der Methylarginine könnte den γ^+ - Transporter betreffen, der große Bedeutung für die Beförderung von Arginin ins Zellinnere zu haben scheint. Möglicherweise kommt es bei starker Anhäufung von Methylargininen zu einem verminderten Transfer von L – Arginin, welches das Substrat für NO darstellt, in die Zellen.^{2,6}

Auch wenn der ADMA Stoffwechsel noch einiges an Aufklärung bedarf, konnte in vielen wissenschaftlichen Arbeiten eine enge Beziehung von asymmetrischem Dimethylarginin mit Atherosklerose, chronischer Niereninsuffizienz und weiteren Erkrankungen nachgewiesen werden.

Bereits 1998 konnte von Böger RH et al.¹¹ gezeigt werden, dass hypercholesterinämische Patienten erhöhte ADMA Spiegel aufweisen und eine schlechtere renale Stickstoffexkretion haben als Patienten mit normalem Cholesterinspiegel. Weiters ergab sich eine negative Korrelation zwischen ADMA und der Fluss medierten Vasodilatation (FMD), welche heute als Messmethode für die endotheliale Funktion anerkannt ist.

Zhang WR et al.¹² untersuchten die ADMA Werte bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und konnten auch hier erhöhte ADMA Konzentrationen messen. Im Rahmen dieser Studie wiesen sie auch einen positiven Zusammenhang von asymmetrischem Dimethylarginin mit der Bildung von atherosklerotischen Plaques und einer Zunahme der Intima – Media – Dicke der A. carotis communis (IMT) nach.

In einer Studie von Lajer M et al.¹³ zeigte sich, dass sich ADMA als prospektiver Marker für kardiovaskuläre Ereignisse bei Typ 1 Diabetikern eignet und dass erhöhte ADMA Spiegel mit einem gesteigerten Risiko für eine progressive diabetische Nephropathie einhergehen.

Auch bei Morbus Bechterew wurde ein Anstieg der ADMA Werte durch Sari I et al.¹⁴ festgestellt. Durch Behandlung mit einem TNF – α Blocker (Etenercept oder Infliximab) konnte interessanterweise ein, im Vergleich zu konventionell mit nichtsteroidalen Antirheumatika bzw. mit Sulfasalazin behandelten Patienten, niedrigerer ADMA Spiegel erreicht werden.

Bei Cao Y et al.¹⁵ wiesen Patienten mit stabiler Angina Pectoris ebenfalls erhöhte ADMA Konzentrationen auf. Noch deutlicher erhöht waren in derselben Studie die ADMA Werte von Probanden mit akutem Koronarsyndrom.

Kielstein et al.¹⁶ beobachteten einen Anstieg des systemischen Gefäßwiderstandes und des Blutdrucks, bei gleichzeitiger Abnahme des Herzschlagvolumens und des renalen Blutflusses, als Reaktion auf Infusion von asymmetrischem Dimethylarginin.

Der häufige Nachweis von erhöhten ADMA Konzentrationen in wissenschaftlichen Arbeiten im Rahmen verschiedener Krankheitsbilder wie akutem Koronarsyndrom oder auch Diabetes Mellitus spricht sicherlich für die Bedeutsamkeit von asymmetrischem Dimethylarginin, das in Zukunft möglicherweise auch eine wichtige Rolle in der pharmakologischen Therapie von Gefäßerkrankungen, wie beispielsweise Atherosklerose, spielen könnte.

Die Aminosäure Arginin

Arginin ist eine proteinogene Aminosäure und wird nach heutigen Erkenntnissen als semiessentiell bzw. konditionell essentiell bezeichnet. Obwohl gesunde Erwachsene ihren Arginin - Bedarf meist durch die eigene Syntheseleistung decken können, kann bei Beanspruchung des Organismus durch Infektionen oder Entzündungen möglicherweise der Bedarf nicht gedeckt werden.¹⁷

Nachdem es im Jahre 1886 erstmals gelungen war Arginin aus Lupinen (*Lupinus*) zu isolieren, konnte die Aminosäure kurz darauf auch als Bestandteil von tierischem Eiweiß nachgewiesen werden. Es dauerte aber bis in die frühen dreißiger Jahre des vergangenen Jahrhunderts bis, initiiert durch die Entdeckung des Harnstoffzyklus durch Krebs und Henseleit, das vielfältige Spektrum an Funktionen, die von Arginin erfüllt werden, erkannt wurde. Zahlreiche wissenschaftliche Arbeiten in den folgenden Jahrzehnten gipfelten 1988 in der Erkenntnis dass Arginin als Substrat für die Synthese von EDRF (endothelium derived relaxing factor = Stickstoffmonoxid) dient.¹⁸

Neben seinen Funktionen als Komponente von Proteinen und als Ausgangsprodukt für Stickstoffmonoxid, spielt Arginin auch eine zentrale Rolle im Metabolismus von Harnstoff, Kreatin, Agmatin, Polyaminen und Prolin.¹⁹ Synonym mit Arginin (Summenformel $C_6H_{14}N_4O_2$) werden die chemischen Bezeichnungen 2-Amino-5-guanidinovaleriansäure und 2-Amino-5-guanidinopentansäure verwendet, ebenso wie die Abkürzungen Arg und R im Drei – bzw. Einbuchstabencode für Aminosäuren. Wie Lysin und Histidin gehört auch Arginin zur Gruppe der basischen Aminosäuren, wobei die Guanidin-Gruppe der Seitenkette einen pK_s Wert von 12,5 hat.^{18,20,21} Die Aminosäure, deren Molekulargewicht bei 174,20096 g/mol liegt, ist nur in der L – Form physiologisch aktiv, während D – Arginin geringeren Stellenwert hat.²²

Aufbau/Entstehung von Arginin

Der Organismus hat 3 Möglichkeiten um seinen Argininbedarf zu decken:¹⁷

- durch Nahrungsaufnahme
- durch endogene Synthese
- durch Proteinumsatz

Bei erwachsenen Menschen stammt dabei der Großteil des benötigten Arginins aus Umsatz von körpereigenem Eiweiß, während die exogene Zufuhr und die de novo Synthese eine eher untergeordnete Rolle spielen.¹⁸

Eine genaue Darstellung der Argininsynthese wird in Abbildung 4 übersichtlich illustriert. Der Produktionsweg von Arginin beinhaltet eine Vielzahl von Zwischenprodukten und Enzymen, die zum Teil organspezifisch sind, während andere dieser Enzyme im Körper weit verbreitet sind. So beschränkt sich das Vorkommen der Pyrrolin – 5 – Carboxylat (P5C) Synthase im Wesentlichen auf die Darmschleimhaut. Die Enzyme Carbamoyl – Phosphat – Synthase 1 (CPS1), Acetyl – Glutamat – Synthase und Ornithin – Carbamoyl – Transferase, die alle Bestandteile des Harnstoffzyklus sind, findet man in Darmmukosa und Leber. Die Prolin – Oxidase konnte zusätzlich zu den bereits genannten Lokalisationen auch in den Nieren nachgewiesen werden.¹⁸ So ist es leicht nachvollziehbar, dass vor allem Dünndarm, Nieren und Leber die bedeutendsten Organe in der Argininsynthese sind. Die vollständige Argininsynthese, vom ersten bis zum letzten Schritt, innerhalb eines einzelnen dieser Organe kommt aber nur bei Neugeborenen vor, während bei Erwachsenen ein Zusammenspiel zwischen den Organen notwendig ist. Nach der Geburt läuft die Synthese von Arginin aus Glutamin, Glutamat und Prolin hauptsächlich über die Enterozyten des Dünndarms. Doch mit zunehmender Aktivität der intestinalen Arginase, kommt es zu einer Abnahme der Argininproduktion und einer vermehrten Citrullinproduktion in der Schleimhaut des Dünndarms. Gleichzeitig steigt allerdings die Fähigkeit der Nieren zur Argininsynthese an und gleicht diesen Effekt wieder aus.¹⁸ Bei dieser sogenannten „intestinal – renalen Achse“ wird das von der Dünndarmmukosa ins

Blut abgegeben Citrullin hauptsächlich von den Nieren aufgenommen und letztendlich zu Arginin weiter metabolisiert.²³

In den proximalen Tubuli der Nieren wird in etwa 60 % der Nettomenge an Arginin bei erwachsenen Menschen hergestellt. Aber auch bei chronischer Niereninsuffizienz ist der Körper in der Lage die Konzentration von Arginin im Blut annähernd aufrecht zu erhalten. Die genauen Kompensationsmechanismen sind bis dato noch nicht genau bekannt. Wahrscheinlich sind aber ein erhöhter Katabolismus der quergestreiften Muskulatur, eine Hypertrophie der proximalen Tubuli, eine vermehrte extrarenale Synthese bzw. ausgleichende Regulationen im Argininabbau.¹⁸

Obwohl die Nieren den größten Anteil an Netto – Arginin erzeugen, leisten die periportalen Hepatozyten der Leber im Rahmen des Harnstoffzyklus eine noch größere Arginin - Synthesearbeit. Jedoch entsteht, bedingt durch die hohe Arginaseaktivität und die effektive Weiterleitung der einzelnen Zwischenprodukte bei der Generation von Harnstoff ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), höchstens ein minimaler Überfluss an Arginin.¹⁸

Auch in vielen anderen Zellen kann Arginin in sehr niedrigen Dosen erzeugt werden. Dies geschieht verstärkt bei Aktivität der induzierbaren NO – Synthase. Das bei der Stickstoffmonoxidproduktion anfallende Citrullin wird dabei wieder zu Arginin weiter metabolisiert (Citrullin – Stickstoffmonoxid bzw. Arginin – Citrullin Kreislauf).²³

Die exogene Zufuhr von Arginin bewegt sich bei normaler Ernährung etwa im Bereich von 3 – 5 g/Tag. Hohe Anteile an Arginin sind vor allem in Fleisch, Fisch, Soja und Nüssen zu finden. Der prozentuelle Anteil von Arginin am Gesamtproteingehalt beträgt bei Fisch ca. 7 % und bei Walnüssen sogar in etwa 15 %.^{20,24} Die Aufnahme von Arginin über die Nahrung ist, wie zuvor bereits angeführt, im Kindes – und Jugendalter und in Zeiten großer Belastung für den Menschen sinnvoll, aber nicht bei gesunden Erwachsenen.^{17,18,23}

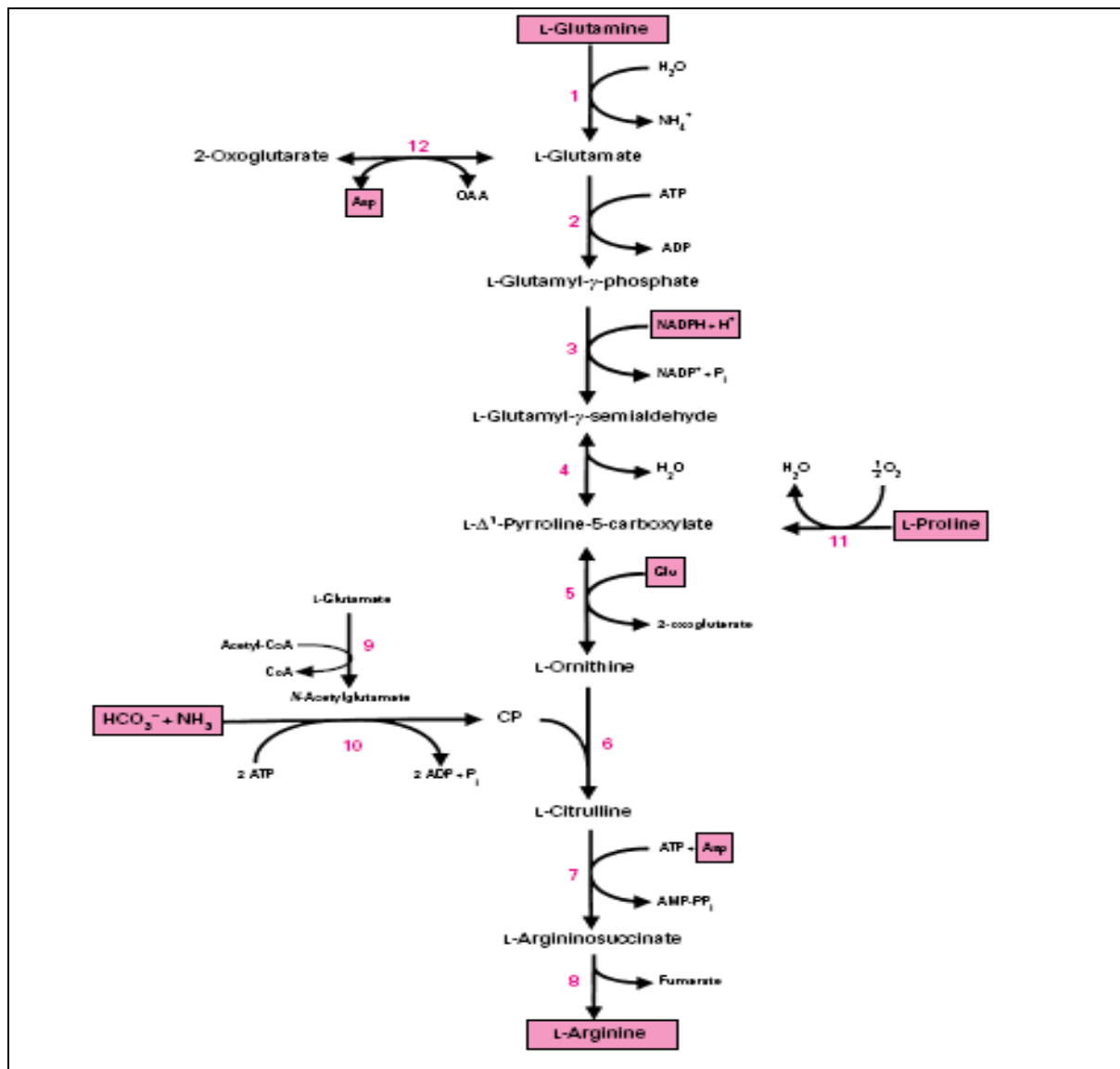


Abbildung 4 Argininsynthese. 1...Glutaminase 2 & 3...P5C-Synthase 4...spontaner nicht enzymatischer Schritt 5...Ornithinaminotransferase 6...Ornithincarbamoyltransferase 7...Argininosuccinatsynthase 8...Argininosuccinatlase 9...Acetylglutamatsynthase 10...Carbamoylphosphatsynthase 11...Prolinoxidase 12...Aspartataminotransferase
 Lokalisation: 1-6 und 9-11...Mitochondrium 7,8...Cytosol 12...Mitochondrium und Cytosol
 6,7,8,9,10 + Arginase stellen die Enzyme des Harnstoffzyklus dar. (18)

Abbau/Metabolisation von Arginin

Die Regulation des Katabolismus von Arginin scheint einen höheren Stellenwert für regelrechte Argininwerte zu haben als die Argininsynthese.¹⁷ Die Abbildung 5 gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Wege des Argininabbaus und die dadurch entstehenden Produkte.

Arginin dient als Substrat für 5 Enzyme:^{19,25}

- Arginin – Decarboxylase
- Arginin – Glycin – Amidinotransferase
- Arginase
- NO – Synthase
- Arginyl – tRNA - Synthase

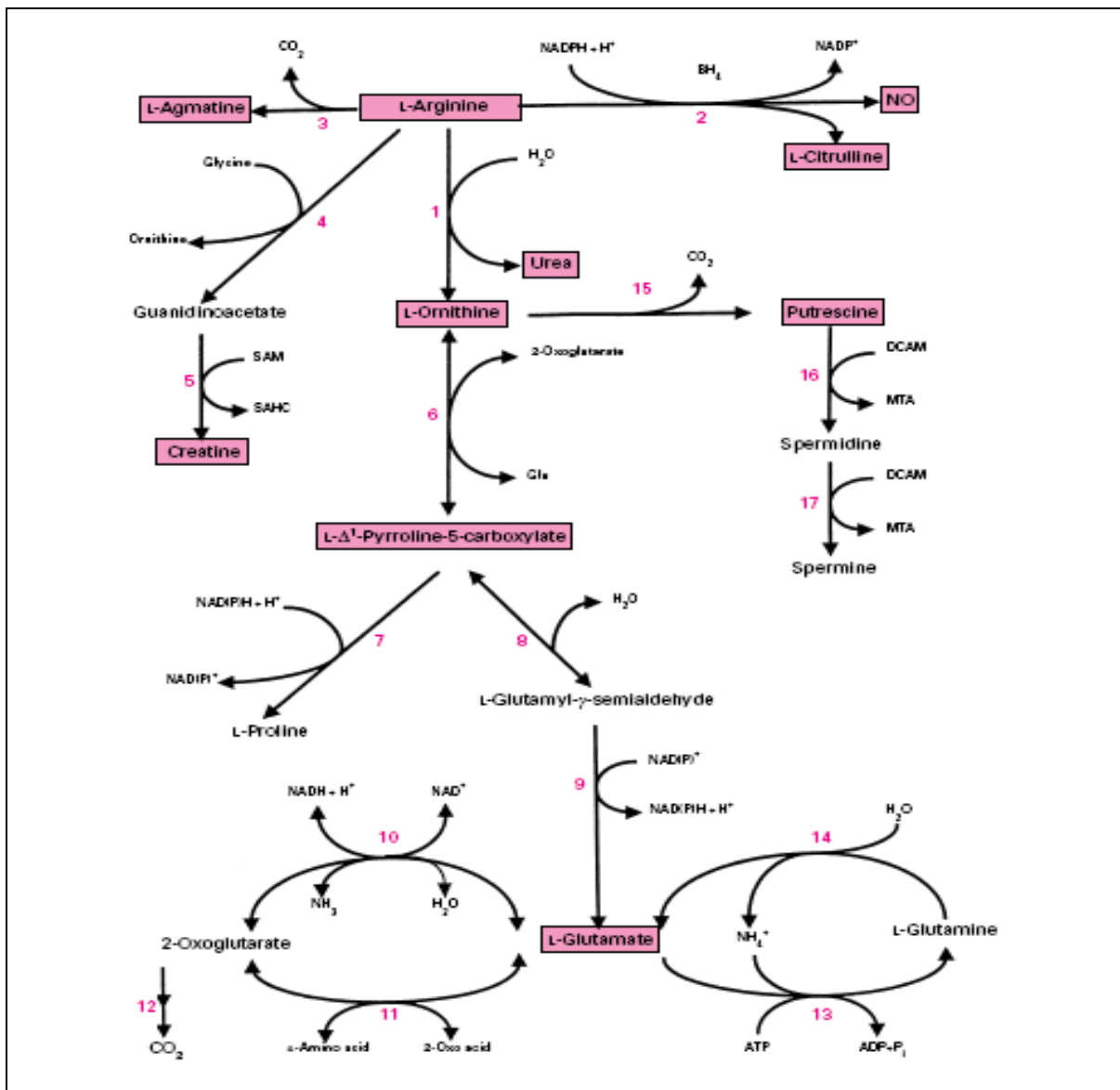


Abbildung 5 Argininabbau. 1...Arginase 2...NOS 3...Arginidecarboxylase 4...Arginylglycinamidinotransferase 5...Guanidinoacetatmethyltransferase 6...Ornithinaminotransferase 7...P5C Reduktase 8...spontaner nicht enzymatischer Schritt 9...P5C Dehydrogenase 10...Glutamatdehydrogenase 11...Alaninaminotransferase 13...Glutaminsynthase 14...Glutaminase 15...Ornithidecarboxylase 16...Spermidinsynthase 17...Sperminsynthase Arginyl-tRNA-Synthase ist nicht gezeigt, ist aber Bestandteil in der Proteinbiosynthese. (18)

Durch die Aktivität der Arginase kommt es zu einer hydrolytischen Spaltung von Arginin zu Harnstoff und Ornithin. Diese Reaktion stellt den letzten Schritt des Harnstoffzyklus dar und ist quantitativ der wichtigste Weg im Argininmetabolismus. Das Enzym ist sowohl intrazellulär, als auch extrazellulär (Plasma, Wunden) aktiv.²⁶ Beim Menschen liegen 2 verschiedene Isoformen der Arginase vor, die von unterschiedlichen Genen codiert werden und sequentiell zu 58 % übereinstimmen. Beide erfüllen die gleiche enzymatische Aufgabe, unterscheiden sich aber in ihrer Lokalisation. Während Typ 1 im Zytosol, vor allem in Hepatozyten, vorkommt, ist Typ 2 ein mitochondriales Enzym, dass in Nieren, Prostata und Dünndarm zu finden ist.²⁷

So wie Arginase nutzt auch die NO – Synthase Arginin als Substrat. Dabei bewegt sich die Michaeliskonstante K_m für Arginin bei der Arginase im Bereich von 2 – 20 mmol/l. Demgegenüber stehen als direkte Konkurrenten um das Substrat die verschiedenen Typen der NOS mit einer K_m von 2 – 20 $\mu\text{mol/l}$, was einer 1000fach höheren Affinität zu Arginin entspricht. Da die Arginase aber eine um den Faktor 10^3 höhere Maximalgeschwindigkeit V_{max} hat, haben die Enzyme einen annähernd gleichen Verbrauch an Arginin. So kann eine hohe Arginaseaktivität die NO – Synthase behindern.¹⁸ Bei der Produktion von NO entsteht allerdings das Zwischenprodukt N – Hydroxy – Arginin (NOHA) das wiederum einen potenten Inhibitor der Arginase darstellt.²⁵ Wie bereits angeführt entsteht bei der enzymatischen Reaktion von Arginin durch die NO – Synthase Stickstoffmonoxid und Citrullin. Dass dieses wieder für die Gewinnung von Arginin eingesetzt wird, konnte an Zellen gezeigt werden, die Citrullin zur Unterstützung der NO – Produktion nutzten.²³

Die Arginin – Decarboxylase Aktivität ist in Leber und Nieren am stärksten ausgeprägt. Das dabei entstehende biogene Amin Agmatin scheint einen hemmenden Effekt auf die Ornithin – Decarboxylase zu haben.²⁸ Agmatin selbst kann durch Agmatinase zu Harnstoff und Putrescin, dem Produkt der Ornithin – Decarboxylase, gespalten werden und bindet an mehrere Rezeptoren im Gehirn, weshalb dem Amin neuromodulatorische Funktionen zugeschrieben werden, die allerdings noch nicht ausreichend wissenschaftlich untersucht wurden.^{17,29}

Die Enzyme im Argininmetabolismus, die zur Bildung von Kreatin führen, sind die Arginin – Glycin – Amidinotransferase und Guanidinoacetat – Methyl – Transferase. Beide sind zytosolische Enzyme, wobei die Arginin – Glycin – Amidinotransferase auch im intermembranösen Raum der Mitochondrien vorkommt. Im ersten Schritt der Synthese von Kreatin, wird aus Arginin und Glycin neben Guanidinoacetat auch Ornithin gebildet, welches im Sinne eines negativen Feedback Mechanismus hemmend auf diese Reaktion wirkt. Demgegenüber haben Somatotropin und Thyroxin eine fördernde Wirkung auf die Aktivität des Enzyms. Die nachfolgende Reaktion weist Ähnlichkeit mit der ADMA – Synthese auf. Denn auch hier fungiert S – Adenosylmethionin als Methylgruppendonor und es entsteht durch die katalytische Wirkung der Guanidinoacetat – Methyl – Transferase neben Kreatin auch S – Adenosylhomocystein.³⁰

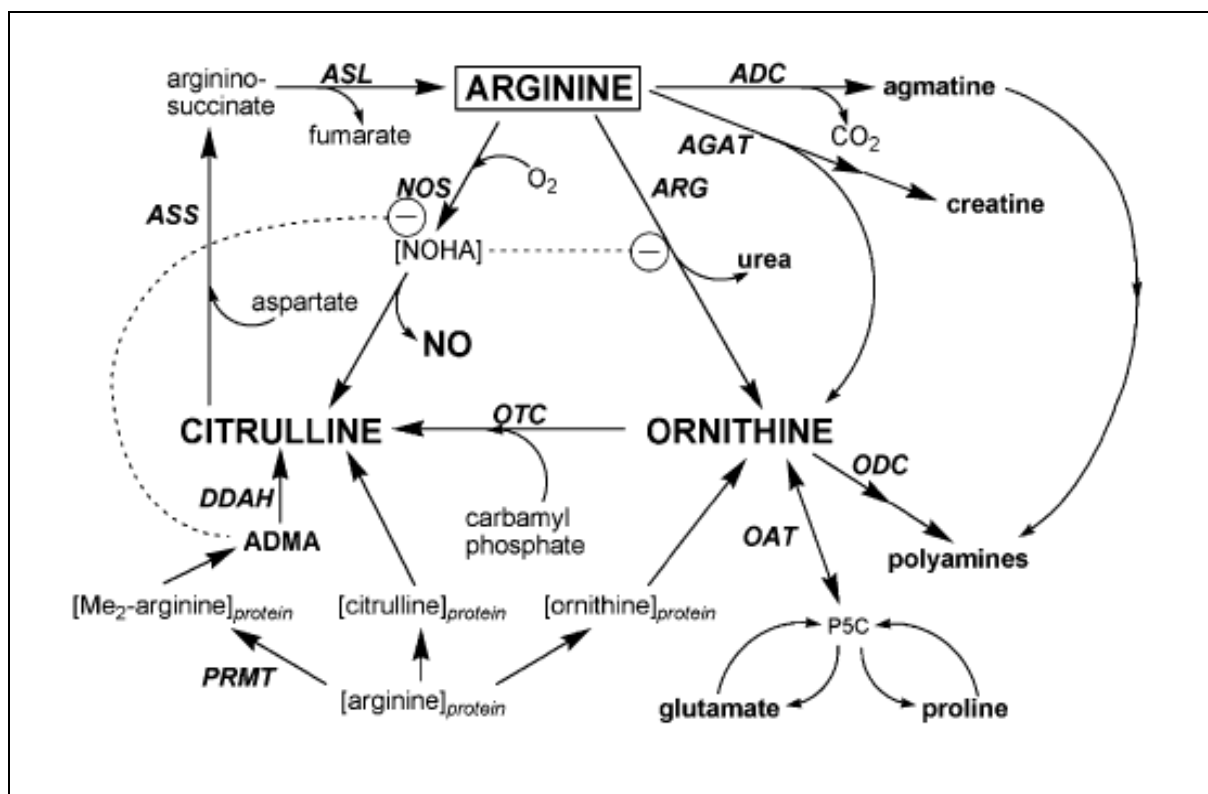


Abbildung 6 Argininstoffwechsel. ADC...Arginidecarboxylase AGAT...Arginylglycylamidinotransferase ARG...Arginase ASL...Argininosuccinatlyase ASS...Argininosuccinatsynthase NOS...NO-Synthase OTC...Ornithincarbamoyltransferase ODC...Ornithindecarboxylase OAT...Ornithinaminotransferase DDAH...Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase PRMT...Proteinargininmethyltransferasen NOHA...N-Hydroxy -Arginin Gepunktete Linien stellen hemmende Wirkung dar. (17)

Arginin im Organismus/Biologische Effekte

Arginin ist im menschlichen Organismus in Zellen in weitaus höherer Konzentration vorhanden als extrazellulär. Dennoch ist ein weiterer zusätzlicher Shift von Arginin in den Intrazellulärraum bei entsprechendem Bedarf möglich.²⁰

Arginin Normwerte im Plasma	
jüngere Männer	81,6 ± 7,3 mmol/l
ältere Männer	113,7 ± 19,8 µmol/l
jüngere Frauen	72,4 ± 6,7 µmol/l
ältere Frauen	88,0 ± 7,8 µmol/l

Tabelle 1 Arginin Normwerte beim Menschen. (20)

Die Verteilung von Arginin steht in engem Zusammenhang mit der Aktivität bzw. der Anzahl an Membrantransportproteinen. An der Zellmembran finden sich kationische Aminosäuretransporter (KAT), die bei Fehlfunktion eine mangelnde NO – Synthese herbeiführen können. Die Kenntnisse über mitochondriale Membrantransporter sind noch eher gering. Zu diesen zählen ORNT 1 und ORNT 2, die vorrangig in Hepatozyten vorkommen und dort für den Harnstoffstoffwechsel, dessen Reaktionen teilweise im Zytosol und zum Teil im Mitochondrium stattfinden, notwendig sind.¹⁷ Das im Kreislauf vorkommende Arginin wird bei Säugetieren eher schnell verstoffwechselt. Die Werte für die Halbwertszeiten bei Schweinen betragen 1,06 h für ausgewachsene Tiere, 0,75 h bei trächtigen Schweinen und 0,65 h bei Neugeborenen.²⁶

Neben seiner Eigenschaft als struktureller Bestandteil von Proteinen, wird Arginin vor allem mit der NO – Synthese in Zusammenhang gebracht. Wie schon erwähnt führt vom Gefäßendothel freigesetztes Stickstoffmonoxid über lösliche Guanylatcyclase in vaskulärer glatter Muskulatur zu einer Vasodilatation. Aber auch Zellproliferation und Angiogenese werden durch NO beeinflusst.³¹ Außerdem wird Stickstoffmonoxid auch antineoplastisches Potential zugeschrieben.³²

Dem durch Decarboxylase entstehenden Agmatin werden neuroprotektive Fähigkeiten zugesprochen und die daraus entstehenden Polyamine Putrescin, Spermin und Spermidin sind für ein regelrechtes Zellwachstum unabdingbar.^{33,34}

Ebenso ist eine ausreichende Verfügbarkeit von Arginin für Proliferation und Funktion von T – Lymphozyten notwendig. Deren Argininverbrauch ist dabei in Ruhe sehr gering, die Aufnahme steigt aber bei Aktivität enorm an, durch vermehrte Funktion von kationischen Aminosäuretransportern. Den Stellenwert von Arginin für das Immunsystem zeigten auch über 40 Studien an chirurgischen Hochrisikopatienten, welche die Aminosäure ergänzend mit der Nahrung zugeführt bekamen, und wobei sich eine Verminderung der postoperativen Infektionen zeigte.²⁴

ALLGEMEINE GRUNDLAGEN

Endotheliale Dysfunktion

Der Begriff „endotheliale Dysfunktion“ ist nicht einheitlich definiert. Mit endothelialer Dysfunktion bezeichnet man umfassende Veränderungen die das Endothel betreffen. Wesentliches Merkmal der endothelialen Dysfunktion ist eine systemische Funktionsstörung der Endothelzellen. Diese halten unter physiologischen Umständen durch eine Vielzahl an Mechanismen die Homöostase der Gefäßwand, sowie den Gefäßtonus und die Fließfähigkeit des Blutes aufrecht und garantieren damit die ausreichende Perfusion der Organe.³⁵ Dieses Gleichgewicht zwischen endothelabhängigen vasodilatatorischen und vasokonstriktiven Faktoren wird im Rahmen der endothelialen Dysfunktion empfindlich beeinträchtigt, was sich vor allem in einer verminderten endothelialen Verfügbarkeit von Stickstoffmonoxid widerspiegelt.^{35,36} Diese Dysbalance ist gekennzeichnet durch eine verminderte Verfügbarkeit von Vasodilatoren währenddessen es zu einer Zunahme an vasokonstriktiven Faktoren kommt. Ein weiteres Charakteristikum der endothelialen Dysfunktion ist die Entstehung eines proinflammatorischen und koagulations- bzw. proliferationsfördernden Milieus, welches das Auftreten von Atherosklerose begünstigt.³⁷ Die klinische Relevanz endothelialer Dysfunktion wird von einer Metaanalyse der gegenwärtigen Studien zum Zusammenhang von kardiovaskulären Ereignissen und endothelialer Dysfunktion unterstrichen. Die Analyse inkludierte annähernd 2500 Personen, die über einen Zeitraum von 1 bis 92 Monaten beobachtet wurden und demonstrierte koronare und periphere endotheliale Dysfunktion als starken, unabhängigen Risikofaktor für ein kardiovaskuläres Event.³⁸

Normale Funktion des Endothels

Das Endothel stellt eine biologisch aktive Barriere zwischen Blut und allen anderen Geweben dar und bildet damit eine Grenzschicht zu potentiell thrombogenen subendothelialen Geweben. Zur Funktion des Endothels zählt die Modulation von Gefäßtonus, der Hämostase und von entzündlichen Prozessen im Gefäßsystem.³⁹ Für eine regelrechte Funktion muss die Balance bei der Produktion vasokonstriktorischer und vasodilatatorischer Faktoren, wie NO, gehalten werden. Genauso wie die Thrombozytenaggregation, die Gerinnungskaskade und das fibrinolytische System dem Einfluss des Endothels unterliegen, werden auch entzündliche Vorgänge durch die Produktion von Zytokinen und Adhäsionsmolekülen reguliert.³⁶

Faktoren zur Aufrechterhaltung der vaskulären Homöostase:³⁶

Gewährleistung des Gefäßtonus:

- NO
- Prostaglandine
- Endothelin 1
- Angiotensin II

Fließfähigkeit/Gerinnung des Blutes:

- NO
- Plasminogen Aktivator (t-PA)
- Heparin
- Plasminogen Aktivator Inhibitor (PAI-1)
- Prostaglandine
- Thromboplastin
- Von Willebrand Faktor

Modulation von entzündlichen Prozessen:

- Monozyten Chemotaktisches Protein (MCP-1)
- Adhäsionsmoleküle (VCAM-1, ICAM-1)
- Interleukin 1, 6, 18
- Tumornekrosefaktor

Klinische Bedeutung der endothelialen Dysfunktion

Assoziation von endothelialer Dysfunktion und kardiovaskulären Risikofaktoren

Es konnte gezeigt werden, dass nahezu alle bekannten Risikofaktoren für Atherosklerose auch mit endothelialer Dysfunktion assoziiert sind.³⁷ In zahlreichen Studien wurde eine Verschlechterung der endothelialen Funktion bei steigender Anzahl an vaskulären Risikofaktoren nachgewiesen. Auch scheint ein gewisser individueller Schwellenwert vorzuliegen, der von der Summe aller Risikofaktoren überschritten werden muss damit es zur Ausbildung einer manifester Atherosklerose kommt.³⁵ Wahrscheinlich stellen die Endothelzellen mit ihren vasoprotektiven Funktionen die wesentliche Größe für diesen Schwellenwert dar. In der Literatur wird daher der endotheliale Status auch als integrierter Index, in den alle atherogenen und atheroprotektiven Faktoren einfließen, bezeichnet. Viele der kardiovaskulären Risikofaktoren, wie Hyperlipidämie, Hypertonie, Diabetes mellitus oder Rauchen, gehen mit einer Überproduktion von Sauerstoffradikalen und einer reduzierten antioxidativen Kapazität einher. Dieser vermehrte oxidative Stress dürfte wesentlich an der Entwicklung von endothelialer Dysfunktion beteiligt sein und führt über eine Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF kappa B zu proinflammatorischen Prozessen und begünstigt damit die Entstehung von Arteriosklerose.³⁵

Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen:³⁶

- Diabetes mellitus
- Dyslipidämie
- Rauchen
- Hypertonie
- Alter
- Infektionen/Entzündungen
- Physikalische Inaktivität
- Homocystein
- Adipositas

Mehrere Studien beschäftigten sich mit dem Zusammenhang von endothelialer Dysfunktion und kardiovaskulären Risikofaktoren.

Den ersten Hinweis auf eine mangelhafte endotheliale Vasodilatation bei Menschen mit Atherosklerose lieferten Ludmer et al. durch angiographische Untersuchungen an den Herzkranzgefäßen von mehreren Patienten nach Applikation von Acetylcholin. Sie entdeckten eine paradoxe Vasokonstriktion der Koronarien bei Patienten mit milder wie auch bei Patienten mit fortgeschrittener koronarer Herzerkrankung.^{40,41} In weiteren Studien wurde durch die Bestimmung der FMD bzw. durch Messungen nach Infusion von Acetylcholin bei Patienten, die zwar kardiovaskuläre Risikofaktoren aufwiesen, aber in der Angiographie keinen Hinweis auf eine koronare Erkrankung zeigten, eine bestehende endotheliale Dysfunktion objektiviert. Daraus kann gefolgert werden, dass endotheliale Dysfunktion bereits im präklinischen Stadium von Arteriosklerose auftritt.⁴⁰

Auch kommt es bereits bei einer milden Hypertriglyzeridämie zum Auftreten von endothelialer Dysfunktion, wie von Lundman P et al. in einer Studie gezeigt werden konnte.⁴²

Al Suwaidi J et al.⁴³ beschäftigten sich in einer Studie mit der Auswirkung von Übergewicht bzw. Adipositas auf die endotheliale Funktion der Koronarien. Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen lieferten deutliche Hinweise darauf, dass mit zunehmendem Gewicht auch der Grad der endothelialen Dysfunktion zunimmt.

Eine von mehreren Studien zur Assoziation von Diabetes mellitus und endothelialer Dysfunktion lieferten Clarkson P et al.⁴⁴. Sie konnten eine negative Korrelation zwischen endothelialer Funktion und der Erkrankungsdauer an Diabetes mellitus Typ 2 nachweisen. Weiters konnte in derselben Arbeit ebenfalls ein negativer Zusammenhang von endothelialer Funktion und LDL Cholesterin gezeigt werden.

Endotheliale Dysfunktion als prognostischer Marker

Da es bereits in einem sehr frühen Stadium der Atherosklerose zu einem Auftreten von endothelialer Dysfunktion kommt, gibt es zahlreiche Studien, in denen die Rolle der Endothelfunktion als prognostischer Marker für kardiovaskuläre Erkrankungen untersucht wird.

So wurde von Schächtinger V et al. bei einer Studie an 147 Patienten, die über einen Zeitraum von 7,7 Jahren verfolgt wurden, gezeigt, dass eine koronare endotheliale Dysfunktion ein Fortschreiten von Atherosklerose und eine erhöhte Rate an kardiovaskulären Ereignissen prognostiziert.⁴⁵

Eine andere Studie konnte eine verminderte FMD der A. brachialis als unabhängigen Prädiktor für postoperative kardiovaskuläre Ereignisse ausmachen.⁴⁶

Interessante Details lieferte auch eine Studie zu endothelialer Dysfunktion und ADMA Konzentrationen bei schwangeren Frauen. Bei dieser wurde bei 43 Frauen, die eine auffällige Dopplersonographie der uterinen Arterien in der 23-25 Schwangerschaftswoche hatten, eine Messung der FMD durchgeführt und der Verlauf der Schwangerschaft beobachtet. Die Kontrollgruppe bestand aus 43 schwangeren Patientinnen mit normalem uterinem Ultraschallbefund. Während bei der Kontrollgruppe alle 43 Frauen Kinder mit normalem Gewicht zur Welt brachten, kam es bei 24 Frauen der Untersuchungsgruppe zu Komplikationen (intrauterine Wachstumsrestriktion, Präeklampsie). Diese 24 schwangeren Frauen wiesen eine signifikant geringere flow-medierte Vasodilatation der A. brachialis auf als die Frauen, die keine Komplikationen hatten, unabhängig ob deren Dopplersonografie der uterinen Arterien auffällig gewesen war oder nicht. Interessant ist, dass eine inverse Korrelation zwischen FMD und ADMA bei Patientinnen mit auffälligem Ultraschallbefund der uterinen Arterien bestand, nicht jedoch bei den Frauen der Kontrollgruppe, welche auch insgesamt deutlich niedrigere ADMA Werte aufwiesen.⁴⁷

Auch die Ergebnisse einer Langzeit Follow up Studie mit 147 Patienten, bei der die Personen mit schwerer endothelialer Dysfunktion eine erhöhte Inzidenz an kardialen Events aufwiesen, lässt auf den prognostischen Wert der endothelialen Funktion schließen.⁴⁸

In einem Review über die Endothelfunktion als potentiellen prognostischen Marker bemängeln Vita A und Keaney J⁴⁹ die uneinheitlichen Messmethoden in den bisherigen Arbeiten, wodurch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschwert wird. Als weiteres Problem sehen sie, dass sich die Untersuchungen meist auf selektierte Populationen beziehen, was die Aussagekraft für die Gesamtbevölkerung einschränkt. Deswegen sind weitere prospektive Studien notwendig bevor die Messung der Endothelfunktion im klinischen Alltag mit einer standardisierten Messmethode etabliert werden kann.

Beeinflussung der endothelialen Dysfunktion

Die endotheliale Dysfunktion, bei der es sich um eine potentiell reversible Störung handelt, kann durch diverse Interventionen beeinflusst werden.³⁷

So führt kontrolliertes körperliches Training in den Gefäßen zu einer Perfusionssteigerung. Dadurch werden Scherkräfte auf das Endothel wirksam, die einen physiologischen Stimulus für eine vermehrte NO Synthese aus Arginin darstellen. Dieser Effekt wird beim medizinischen Gehtraining bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit genutzt.³⁵ Eine bewegungsarme Lebensweise aber begünstigt Adipositas und daher auch endotheliale Dysfunktion, erhöhten oxidativen Stress und erhöhte Entzündungsmarker. Die American Heart Association geht von einem protektiven Effekt von fettarmer Ernährung bzw. einem hohen Konsum von Früchten und Gemüse gegenüber kardiovaskulären Erkrankungen aus. Möglicherweise geht ein Teil dieses Effektes von einer erhöhten Aufnahme von Flavonoiden aus, welche scheinbar die Endothelfunktion verbessern.³⁶

Da oxidativer Stress in der Pathogenese von endothelialer Dysfunktion eine wesentliche Rolle spielt, wurde auch die Auswirkung von Antioxidantien auf die

Endothelfunktion untersucht. Mit Glutathion wurde in einer Studie von Prasad A et al. eine Verbesserung der endothelvermittelten Vasodilatation bei Patienten mit Atherosklerose bzw. mit entsprechenden Risikofaktoren erreicht.⁵⁰

Bezüglich Vitamin E sind die Daten nicht einheitlich.³⁶ So konnte bei einer Arbeit von Heitzer T et al.⁵¹ durch die Gabe von Vitamin E an hypercholesterinämische Raucher eine Verbesserung der endothelabhängigen Vasodilatation erreicht werden. Demgegenüber wurde von Yusuf S⁵² durch die Verabreichung von Vitamin E an Hochrisikopatienten keine Verbesserung des kardiovaskulären Outcomes nachgewiesen.

In groß angelegten randomisierten Studien zur Wirkung von Vitamin C konnte, bis auf wenige Ausnahmen, gezeigt werden, dass eine Supplementation die endotheliale Dysfunktion in koronaren und peripheren Arterien verbessern kann.^{35,37,53} Studien wie jene von Levine GN et al.⁵⁴, die durch die orale Gabe von Ascorbinsäure eine Verbesserung der FMD bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit nachwiesen oder auch von Ting H et al.⁵⁵, die ähnliche Ergebnisse bei hypercholesterinämischen Patienten erhielten, lassen auf eine protektive Wirkung von Vitamin C schließen.

Auch mit N – Acetylcystein konnten positive Effekte auf die Funktion des Endothels erzielt werden. Nach der Applikation von N – Acetylcystein an Patienten mit Atherosklerose wurde sowohl in den Koronarien, wie auch in den peripheren Gefäßen eine deutliche Zunahme der endothelabhängigen Vasodilatation nachgewiesen.⁵⁶

Eine mögliche therapeutische Option stellt auch die Gabe von L – Arginin, welches das Substrat für die NO Produktion ist, dar. Creager MA et al.⁵⁷ zeigten, dass es durch intravenös verabreichtes L – Arginin bei hypercholesterinämischen Patienten zu einer verbesserten endothelabhängigen Vasodilatation kam. Ebenso konnte durch orale Supplementation von L – Arginin in einer randomisierten Studie eine Verbesserung der Endothelfunktion erzielt werden.⁵⁸ Jedoch sind die Ergebnisse zu L – Arginin nicht einheitlich. So konnte in einer Arbeit von Mullen

MJ et al.⁵⁹ bei Typ 1 Diabetikern unter L – Arginin Supplementation keine signifikante Verbesserung der endothelialen Funktion erreicht werden.

Ein weiterer Ansatzpunkt in der Verbesserung der endothelialen Dysfunktion ist die Reduktion von low - density Lipoproteinen (LDL). So bewirkt die Behandlung mit HMG – CoA – Reduktasehemmern (Statine) wie Lovastatin eine Verbesserung der Endothelfunktion.⁶⁰ Dies ist neben der cholesterinsenkenden Wirkung auch auf eine Reihe von weiteren positiven Effekten der Statine zurückzuführen. So kommt es unter einer Therapie mit Statinen zu einer vermehrten Expression und Aktivität der endothelialen NO Synthase und zu einer verminderten Synthese des Vasokonstriktors Endothelin 1. Zahlreiche Studien belegen auch die antiinflammatorische und antioxidative Wirkung von Statinen.⁶¹

Weitere Möglichkeiten der medikamentösen Therapie bieten Angiotensin Converting Enzym (ACE) Hemmer und Angiotensin Rezeptor Antagonisten (Sartane). So wurde von Mancini GB et al.⁶² der positive Effekt von ACE – Inhibitoren auf die endotheliale Funktion nachgewiesen. Auch O’Driscoll et al. konnten in ihrer Studie durch die intraarterielle Infusion von Enalapril eine sofortige Verbesserung der endothelialen Funktion erreichen. Ebenso bewirkte die orale Gabe von Enalapril über den Zeitraum von einem Monat eine deutliche Verbesserung der endothelialen Funktion bei Typ 1 Diabetikern.⁶³ Die Wirksamkeit von Sartanen belegen unter anderem eine Studie von Wassmann S. et al.⁶⁴ bei der 47 hypercholesterinämische Patienten untersucht wurden oder auch eine Arbeit von Prasad et al.⁶⁵, die mit Losartan eine positive Beeinflussung von endothelialer Dysfunktion bei Patienten mit Atherosklerose erreichen konnten.

Messung der endothelialen Dysfunktion

Zur Messung der Endothelfunktion stehen mehrere sowohl invasive, wie auch nicht invasive Verfahren zur Verfügung. Es zeigte sich dass, die Messung der endothelabhängigen Vasodilatation als Indikator für die erhaltene oder gestörte Integrität des Endothels gilt.³⁶ In den Verfahren wird eine gesteigerte NO Produktion des Endothels durch verschiedene Stimuli hervorgerufen. Eine solche NO Freisetzung kann durch eine Erhöhung der Scherkräfte, die auf die Gefäßwand wirken, oder auch durch vasoaktive Substanzen wie Acetylcholin und Bradykinin erreicht werden.³⁶

Die ersten Studien über den Einfluss des Endothels auf die Regulation der Gefäße wurden mittels quantitativer Koronarangiographie durchgeführt. Dabei wurde die Reaktion der Koronararterien auf die Infusion von Acetylcholin beobachtet, wobei dies in gesunden Gefäßen zu Vasodilatation, bei gestörter Endothelfunktion aber zu Vasokonstriktion führt.³⁶ Mit dieser Methode konnten Ludmer PL et al.⁴¹ bereits 1986 Funktionsstörungen des Endothels nachweisen.

Eine weitere invasive Messmethode stellt die Venenverschlussplethysmographie dar. Dabei werden durch einen arteriellen Katheter Substanzen wie Acetylcholin oder Methacholin appliziert, welche endothelabhängig durch Freisetzung von Stickstoffmonoxid zu einer Vasodilatation führen. Bei der Untersuchung werden an der zu untersuchenden Extremität strain-gauge Dehnungsbänder angelegt, an denen eine Gewebsvolumenzunahme gemessen werden kann. Nach Verabreichung der vasoaktiven Substanzen kann dann anhand der Zunahme des Gewebsvolumens die Reaktion der Gefäße beurteilt werden.³⁵

Während die Venenverschlussplethysmographie in erster Linie zur Beurteilung der Endothelzellfunktion der Widerstandsgefäße dient, spiegelt die sonographische Messung der Fluss-medierten Vasodilatation (FMD) der A. brachialis die Endothelfunktion in peripheren Leitungsgefäßen wieder. Bei dieser nicht invasiven Untersuchungsmethode wird am Unterarm des Patienten eine Blutdruckmanschette mit suprasystolischem Druck angelegt und nach einigen Minuten wieder gelockert. Die dann auftretende reaktive Hyperämie führt in der A.

brachialis zu einer endothelvermittelten Gefäßerweiterung, die mittels hochauflösenden Ultraschalls dargestellt werden kann.³⁵

Da es sich bei der Messung der flow-medierten Vasodilatation um ein nicht invasives Verfahren handelt ist es auch für die Untersuchung von größeren Personengruppen geeignet. Bei der Untersuchung der FMD sind aber Nebenbedingungen wie Raumtemperatur, Tageszeit, Menstruationszyklus und Medikation der Patienten zu berücksichtigen. Um die Ergebnisse verschiedener Studien miteinander vergleichen zu können, ist es notwendig die Messung international zu standardisieren zu können.³⁵

Parodontitis

Die Parodontitis ist als eine entzündliche Erkrankung des parodontalen Stützgewebes, die meist progressiv verläuft und eine Destruktion des parodontalen Aufhängeapparates und Knochens verursacht, definiert. Sie wird als eine Folgeerkrankung der Gingivitis angesehen, wobei dieser Zusammenhang häufig gegeben aber nicht zwingend ist, da es Hinweise auf ein Auftreten von parodontalen Destruktionen auch ohne die klinischen Zeichen einer Gingivitis gibt. Die chronische Erwachsenenparodontitis wird in eine schwache, mäßige und schwere Verlaufsform eingeteilt. Dabei ist die schwache chronische Erwachsenenparodontitis klinisch eher unauffällig und nur durch eine erhöhte Sondierungstiefe charakterisiert. Bei der mäßigen Verlaufsform hingegen ist ausgelöst durch eine stärkere Gewebereaktion bereits ein Attachmentverlust von 2 – 4 mm bzw. eine klinische Sondierungstiefe von 5 – 6 mm mit Knochenverlust feststellbar. Die schwere chronische Erwachsenenparodontitis präsentiert sich durch stärkere parodontale Einbrüche und eine Sondierungstiefe von über 6 mm mit einer erheblichen Gefährdung der Zähne. Als weitere Formen der Parodontitis sollen noch die präpubertäre Parodontitis, die juvenile Parodontitis und die rasch fortschreitende Parodontitis erwähnt sein.⁶⁶

Epidemiologie der Parodontitis

Weltweit gehören Entzündungen des Zahnhalteapparates zu den am weitesten verbreiteten Erkrankungen. In der Bundesrepublik Deutschland gehen nach dem 40. Lebensjahr mehr Zähne durch Parodontalerkrankungen verloren als durch Karies.⁶⁶ In der Parodontologie werden unterschiedliche Indexsysteme verwendet um klinische Symptome standardisiert und mit reduziertem subjektiven Faktor zu skalieren. Der von der WHO empfohlene Index zur Erhebung des Behandlungsbedarfs in größeren Bevölkerungsgruppen ist der Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN). Bei diesem wird das Gebiss in 6 Segmente geteilt und anhand von Indexzähnen (17/16, 11, 26/27, 47/46, 31, 36/37) bezüglich Blutung nach Sondierung, Zahnstein, Plaqueretentionsstellen und Taschentiefe beurteilt. Die Einteilung von Grad 0 bis Grad 4 entspricht der notwendigen Behandlung wobei das Spektrum hierbei von keiner Behandlung bis

zu komplexer Parodontitistherapie reicht. In neueren Untersuchungen wird allerdings auf Empfehlung der WHO von der Zuordnung der Behandlungs - notwendigkeit abgesehen sodass nur noch von CPI gesprochen wird. Eine von der American Academy of Periodontology (AAP) modifizierte Form des CPITN stellt der Parodontale Screening Index (PSI) dar.⁶⁷ Auch hier wird das Gebiss in Sextanten eingeteilt wobei allerdings jeder Zahn untersucht wird und der jeweils höchste Wert (0 – 4) notiert wird. Wird an einer Stelle der Grad 4 ermittelt so kann direkt zum nächsten Segment übergegangen werden. Mit Hilfe einer WHO – Sonde erfolgt auch hier anhand von Blutungen, Sondierungstiefen und Zahnstein eine Einteilung von Grad 0 bis 4.⁶⁸

Community Periodontal Index of Treatment Needs (Ainamo et al. 1982)				
Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3	Grad 4
Gesund, ohne klinischen Befund	Blutung nach Sondierung	supra- bzw. subgingivaler Befall	Taschentiefe 4 – 5 mm	Taschentiefe 6 mm und größer
keine Therapie	Mundhygiene - Instruktion	Mundhygiene - Instruktion, Zahnstein - entfernung und Korrektur von Plaque - retentionszysten	Mundhygiene - Instruktion, Zahnstein - entfernung und Korrektur von Plaque - retentionszysten	komplexe Parodontitis -therapie

Tabelle 2 Bewertungskriterien und Behandlungskonsequenzen des CPITN (67)

Im Rahmen der vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie im Jahre 2005 wurde in der Altersklasse der 35 – 44 jährigen bei 45,3 % der Probanden eine moderate Parodontitis und bei 7,8 % eine schwere Parodontitis diagnostiziert. Bei den 65 – 74 jährigen steigt der Anteil der Erkrankten bereits auf 54,1 % bzw. auf 21,6 %.⁶⁹

CPI - Grad	35 – 44 Jahre	65 – 74 Jahre
CPI 0	0,5%	1,4%
CPI 1	11,8%	4,0%
CPI 2	14,4%	6,8%
CPI 3	52,7%	48,0%
CPI 4	20,5%	39,8%

Tabelle 3 CPI – Prävalenzen zur parodontalen Situation in Deutschland (2005). (69)

Ätiologie der Parodontitis

Bei der Parodontitis handelt sich um eine ausgeprägte entzündliche Reaktion des Peridontalligaments und des Alveolarknochens auf den Biofilm der Parodontaltaschen. Diese bakteriellen Biofilme weisen eine sehr hohe Erregerdichte auf (Zahnbelag: 10^{11} Keime/g) und zeigen im Allgemeinen eine hohe bis sehr hohe Resistenz gegenüber antibakteriellen Stoffen. Ortsständige Biofilme (= Plaque) lassen sich im Gegensatz zu Bakterien in der freischwebenden, planktonischen Phase auch nur unvollständig durch Verdünnung oder (Wasser-) Durchfluss eliminieren.⁶⁷ Der Biofilm setzt sich aus Mikrokolonien von unterschiedlichen Bakterienspezies zusammen. Zwischen diesen Kolonien findet ein Austausch von Nähr- und Botenstoffen statt, sodass es zu einer Zunahme der Pathogenität kommen kann. Ebenso werden dadurch das Wachstum und das Überleben der Bakterien gefördert. Eine Plaque ist umso parodontopathogener, je mehr bewegliche, gramnegative und anaerobe Erreger in ihr zu finden sind. In kontrollierten Studien, die den Einfluss von Plaque auf die Entstehung von entzündlichen Parodontopathien zeigten, konnte belegt werden, dass bei Verzicht auf Maßnahmen zur Mundhygiene, schon nach wenigen Tagen erste Zeichen einer Gingivitis auftreten.⁶⁸

Parodontitisassoziierte Bakterien mit sehr hoher Relevanz:⁶⁷

- *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
- *Porphyromonas gingivalis*
- *Prevotella intermedia*
- *Tannerella forsythensis*

Parodontitisassoziierte Bakterien mit hoher Relevanz:⁶⁷

- *Eikenella corrodens*
- *Campylobacter recta*
- *Fusobacterium nucleatum*
- *Treponema denticola*

Pathogenese der Parodontitis

Die Parodontitis wird wesentlich von Wirtsfaktoren des Organismus gekennzeichnet und verläuft schubweise.⁶⁷ Bei der Pathogenese der Gingivitis und Parodontitis werden histologisch nach Page und Schroeder vier Phasen unterschieden:⁶⁸

- Initiale Läsion

Sie entsteht nach etwa 2 bis 4 Tagen und ist vollständig reversibel. Klinisch sind noch keine Läsionen erkennbar. Durch die entzündlichen Vorgänge wird die Permeabilität der Gefäße erhöht und es kommt zu einer vermehrten Migration von neutrophilen Granulozyten.

- Frühe Läsion

Entsteht innerhalb von 2 Wochen aus einer initialen Läsion. Es finden sich mehr Abwehrzellen (70 – 90% Lymphozyten, mehrheitlich T – Zellen) im Infiltrat und es kommt zu einem Verlust von Kollagen.

- Etablierte Läsion

Im Zeitraum von wenigen Wochen kann sich bei Erwachsenen aus einer frühen Läsion eine etablierte Läsion entwickeln, die noch vollkommen reversibel zu sein scheint. Bezeichnend sind ein vermehrtes Auftreten von B – Lymphozyten und extravaskulären Immunglobulinen. Es treten Taschen mit einer Tiefe von bis zu 3 mm auf.

- Fortgeschrittene Läsion

Hierbei handelt es sich um einen destruktiven Prozess des Parodonts, der nicht mehr vollständig reversibel ist. Die Läsion dehnt sich im fortgeschrittenen Stadium auf den Alveolarknochen und das Desmodont aus und es kommt zu einer ausgedehnten entzündlichen und immunologischen Gewebsreaktion.

Die in den Biofilmen vorkommenden, vorrangig anaeroben, Bakterien leiten die Gewebeerstörung durch ein breites Spektrum von Substanzen ein. Durch Kapseln, Schleime, Immunglobulin – und komplementabbauende Enzyme und Leukotoxine versuchen die Erreger einer Abwehr durch den Wirt zu entgehen. Weiters wird eine direkte Gewebsschädigung durch Enzyme (Kollagenasen, Hyaluronidase usw.) und zytotoxische Substanzen wie Ammonium oder Butyrat verursacht. Lipoteichonsäure und auch Lipopolysaccharide, die beim Abbau von gramnegativen Bakterien austreten sind wesentlich für die Resorption von Knochengewebe verantwortlich. Bei fortgeschrittener Destruktion des parodontalen Epithels treten zytotoxische Stoffwechselprodukte der Bakterien (z.B.: Schwefelwasserstoff) in das Gewebe ein und bewirken eine Störung der Mikrozirkulation. In weiterer Folge treten in der Pathogenese der Parodontitis immunologische Vorgänge auf, die ebenfalls zur Destruktion des Zahnhalteapparates beitragen. Dabei kann die unspezifische Immunantwort bei aggressiven Formen der Parodontitis durch Leukotoxin (beispielsweise von *A. actinomycetemcomitans*), welches phagozytierende Granulozyten schädigt, beeinträchtigt sein. Bakterielle Antigene stimulieren die Freisetzung von Antikörpern aus B – Lymphozyten. Bei einem großen Teil der Patienten lassen sich vor allem hohe IgG – Titer gegenüber speziellen Erregern nachweisen. Durch immunglobulinspaltende Proteasen kann es aber zu einer Verminderung des Effektes kommen. Im entzündeten Parodont finden sich auch erhöhte Konzentrationen von inflammatorischen Zytokinen, welche die Entzündung aufrechterhalten. Weiters wird der Abbau des Knochens durch eine erhöhte Aktivität der Osteoklasten forciert.⁶⁷

Therapie der Parodontitis

Die systemische parodontale Therapie wird in 3 aufeinander folgende Bereiche unterteilt:⁶⁸

1. Initialtherapie (unterteilt in 2 Phasen)
2. korrektive Therapie
3. unterstützende Parodontitistherapie

Patienten mit einem Parodontalen Screening Index (PSI) von 1 werden meist nur mit den Behandlungen der ersten Phase der Initialtherapie therapiert. Bei einem PSI von 2 werden gegebenenfalls auch Maßnahmen der zweiten Phase der Initialtherapie angewendet. Auch bei Patienten mit einem PSI von 3 oder 4 wird zunächst die Initialtherapie durchgeführt. Danach erfolgt eine Reevaluation und eventuell eine korrektive (chirurgische) Therapie.

Initialtherapie⁶⁸

Das Behandlungsziel ist es plaque – und zahnsteinfreie orale Verhältnisse zu schaffen. Dabei sollen Veränderungen des Zahnfleisches behoben und eine Progression der Krankheit verhindert werden.

Erste Phase:

- Patientenmotivation, Instruktion
- Kontrolle der Compliance
- Intensivierung der Mundhygiene
- Entfernung bakterieller Schlupfwinkel
- supragingivale Zahnstein – und Plaqueentfernung
- Nikotinreduktion

Zweite Phase:

- subgingivale Zahnstein – und Plaqueentfernung
- eventuell Weichteilkürettage
- eventuell Beseitigung von Okklusionsstörungen
- eventuell provisorische Restauration
- eventuell medikamentöse Therapie

Korrektive Therapie⁶⁸

Sollten nach der Initialtherapie noch Parodontien vorhanden sein, die bei Sondierung bluten und kein Rückgang der Sondierungstiefen nachweisbar sein, wird der Patient einer chirurgisch – korrektiven Therapie zugeführt. Ziele der chirurgischen Intervention sind eine Reduzierung der Sondierungstiefen, eine Auffüllung der Knochentaschen mit körpereigenem Gewebe, die Etablierung eines entzündungsfreien Parodonts bzw. die Festigung gelockerter Zähne.

Die korrektive Phase setzt sich in Abhängigkeit von der Indikation aus folgenden Bereichen zusammen:

- chirurgische Maßnahmen
- Extraktionen von Zähnen
- endodontische Versorgungen
- Anfertigung definitiver Restaurationen
- orthodontische Therapie

Unterstützende Therapie⁶⁸

Um den in der vorherigen Phase erreichten Behandlungserfolg dauerhaft zu erhalten ist eine konsequente unterstützende Parodontistherapie (= unterstützende Nachsorge, Erhaltungstherapie) notwendig. Je nach Risiko sollten zwischen einer bis zu zwölf Behandlungssitzungen pro Jahr erfolgen. Die Erhaltungstherapie beinhaltet unter anderem eine Erhebung des Entzündungsindex, eine Belag – und Zahnsteinentfernung, Remotivation des Patienten und Fluoridierung.

HINTERGRUND DER DIPLOMARBEIT

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind in den Industriestaaten als die häufigste Todesursache zu sehen. Sie sind dort an der Gesamtmortalität mit etwa 45% beteiligt und sind auch in den Entwicklungsstaaten für etwa 25% der Todesfälle verantwortlich. Ischämische Herzerkrankungen und cerebrovaskuläre Geschehen führen dabei die Statistik der Todesursachen an. Und auch in Zukunft werden Herz – Kreislaufferkrankungen weltweit bedeutend zur Sterblichkeitsrate beitragen.⁷⁰

Erhöhte Konzentrationen von ADMA, einem endogenen Inhibitor der NO – Synthese, stellen mit ihren Auswirkungen wie Vasokonstriktion, Hypertonie und endothelialer Dysfunktion einen wesentlichen Risikomarker dar. Die Parodontitis als häufige Krankheit wird epidemiologisch mit kardiovaskulären Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Bei Patienten mit aggressiver Parodontitis konnte bereits eine endotheliale Dysfunktion, gemessen mittels Fluss medierter Vasodilatation, nachgewiesen werden.⁷¹ Die Mechanismen dieser endothelialen Dysfunktion sind bis dato nicht eindeutig geklärt.

Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen ob diese endotheliale Dysfunktion von erhöhten ADMA Konzentrationen und einer Erniedrigung der Arginin Konzentrationen, dem eigentlichen Substrat der NO – Synthese, begleitet ist. Da eine Erniedrigung des Verhältnisses der beiden konkurrierenden Substanzen (Arginin/ADMA Ratio) bei Patienten mit endothelialer Dysfunktion, verursacht durch eine Reihe von kardiovaskulären Risikofaktoren, gezeigt werden konnte, soll nachgewiesen werden ob auch eine parodontale Erkrankung zu einer Beeinflussung dieser Ratio führt. Bei entsprechendem Zusammenhang zwischen endothelialer Dysfunktion, Arginin/ADMA Ratio und Parodontitis, wäre dies ein weiterer Hinweis dafür, dass eine Therapie der Parodontitis auch der Prävention von kardiovaskulären Ereignissen dienen würde.

METHODEN

Patienten

In der Studie wurde eine Gruppe von 30 Personen mit schwerer Parodontitis untersucht. Für die Teilnahme an der Studie mussten die Patienten im Alter von 25 – 50 Jahren sein und an einer von einem Parodontologen festgestellten schweren Parodontitis leiden. Ausschlusskriterien für die Patientengruppe waren eine bekannte Systemerkrankung oder eine Herz-Kreislauf-Erkrankung. Auch Diabetes mellitus, in Übereinstimmung mit den Richtlinien der American Diabetes Association⁷² oder eine arterielle Hypertonie (RR systolisch > 140 mmHg bzw. diastolisch > 90 mmHg) stellten Ausschlussgründe dar. Die Patienten durften sich in den letzten 6 Monaten auch keiner parodontalen Therapie unterzogen haben und keine Antibiotika oder Antioxidantien in den letzten 3 Monaten eingenommen haben. Außerdem nahm keiner der Patienten zur Zeit entzündungshemmende Medikamente ein. Zusätzlich gab es eine aus 31 gesunden Personen bestehende Kontrollgruppe. Die Objektivierung einer schweren Parodontitis erfolgte durch erfahrene Parodontologen. Dabei wurde bei den Patienten jeder Zahn an 6 Stellen bezüglich Sondierungstiefe, Zahnfleischrückgang und Blutungen nach Sondierung beurteilt. Zur Beurteilung des Zahnfleischverlusts erfolgte die Abstandsmessung von der Schmelz – Zement – Grenze zum Margo gingivalis, welcher auch als Referenzpunkt für die Sondierungstiefe verwendet wurde. Für die Diagnose einer schweren Parodontitis musste pro Patient an mindestens 6 Zähnen, an 3 untersuchten Stellen eine Taschentiefe von mehr als 5 mm und ein Attachmentverlust von zumindest 3 mm vorhanden sein. Patienten, die an einer mittelgradigen Parodontitis litten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Die Teilnehmer der Kontrollgruppe durften keine Taschentiefe von 2 mm und keinen Attachmentverlust von 3 mm aufweisen.

	Parodontitisgruppe (N = 30)	Kontrollgruppe (N = 31)
Alter (Jahre)	41,2 ± 7,4	40,2 ± 4,7
Frauen	19 (63%)	16 (51%)
BMI (kg/m²)	24,2 ± 5,4	24,8 ± 3,6
Raucher	9 (30%)	8 (26%)
Gesamt Cholesterin (mg/dl)	207 ± 35	203 ± 39
LDL Cholesterin (mg/dl)	123 ± 33	133 ± 33
HDL Cholesterin (mg/dl)	67 ± 19	61 ± 13
Triglyceride (mg/dl)	84 ± 50	88 ± 48
Hb A_{1c} (%)	5,14 ± 0,35	5,16 ± 0,39
RR systolisch (mmHg)	119 ± 20	115 ± 15
RR diastolisch (mmHg)	79 ± 10	80 ± 10

Tabelle 4 Basiswerte der Parodontitispatienten und der Kontrollgruppe.

Werte sind Mittelwerte ± SD

Parodontale Therapie

Die 30 Patienten mit schwerer Parodontitis unterzogen sich zunächst alle einem individuellem Mundhygieneprogramm, welches neben einer professionellen Zahnreinigung eine Aufklärung über Parodontitis und eine Schulung über korrekte Zahnhygiene beinhaltete. Anschließend wurden die klinischen Parameter erstmalig erhoben. In weiterer Folge wurde jeder der Patienten in 2 Sitzungen, je nach Bedarf, mit einer konservativen nicht – chirurgischen Therapie behandelt. Außerdem führten die Patienten für 14 Tage lang Mundspülungen mit Chlorhexidin Gluconat (0,1%) durch und es wurde eine systemische Antibiose für 7 Tage durchgeführt. Diese setzte sich aus Amoxicillin + Clavulansäure und zusätzlich Metronidazol zusammen. In der darauf folgenden Zeit wurde die Compliance der Patienten überprüft und es wurde eine weitere professionelle Mundhygiene gemacht. 3 Monate nach der Behandlung wurden die Patienten dann neuerlich evaluiert. Eine erfolgreiche parodontale Therapie lag vor wenn keine Taschen mit einer Tiefe von mehr als 5 mm mehr vorhanden waren und es zu keinem Auftreten von Blutungen bei der Sondierung mehr kam.

Messung der endothelialen Funktion

Die Beurteilung der endothelialen Funktion erfolgte anhand der endothelabhängigen Fluss – medierten Vasodilatation der Arteria brachialis. Diese wurde bei den Parodontitispatienten 2mal gemessen. Die erste Messung erfolgte innerhalb einer Woche nach der ersten Behandlung und die zweite Messung der Endothelfunktion fand 3 Monate nach Beendigung der Therapie statt. Die Untersuchung der FMD erfolgte mit einem Acuson Sequoia 512 Ultraschallgerät. Mit diesem wurden zweidimensionale Aufnahmen der Arteria brachialis über der Ellenbeuge gemacht. Dabei wurde zunächst eine Aufnahme zu Beginn der Untersuchung gemacht und anschließend eine Blutdruckmanschette am Unterarm für 5 Minuten suprasystolisch okkludiert. Eine Minute nach Ablassen der Manschette wurde die Arteria brachialis erneut über der Ellenbeuge sonographisch vermessen. Die Patienten waren zum Untersuchungszeitpunkt nüchtern und die Messungen fanden in einem ruhigen, klimatisierten Raum statt. Für die Auswertung des Gefäßdurchmessers, wurde der Abstand der Intima – Lumen - Grenzen an mehreren Stellen manuell vermessen und daraus ein durchschnittlicher Wert ermittelt. Die Analyse erfolgte durch einen einzelnen Begutachter, dem keine Informationen über den Zustand der Patienten vorlagen.

Laborchemische Analysen

Die Laborparameter wurden zu Beginn der Studie evaluiert sowie 3 Monate nach Beendigung der erfolgreichen parodontalen Therapie. Die Bestimmung der ADMA, sowie der Arginin Konzentrationen im Plasma der Patienten erfolgte anhand einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) durch das Klinische Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Medizinischen Universität Graz, welches auch die Messung der Routinelaborparameter durchführte. Zum Nachweis von Arginin bzw. ADMA kam eine leicht modifizierte Variante der HPLC Methode nach Teerlink zur Anwendung, die in einer Arbeit zur Messung von Argininmetaboliten von Meinitzer A et al.⁷³ beschrieben wurde. Es handelt sich dabei um eine HPLC mit pre – column Derivatisierung und abschließender Fluoreszenzdetektion.

Statistische Analysen

Für sämtliche statistischen Analysen wurde das Programm SPSS für Windows (Version 19.0) verwendet. Der Vergleich der Gruppen erfolgte durch ungepaarten T – Test und die Veränderungen nach erfolgter Therapie wurden mittels gepaartem T – Test analysiert. Zum Ausschluss von ungewollten Einflussfaktoren wurde eine lineare Regressionsanalyse mit Alter, Geschlecht, Nikotinkonsum, Body Mass Index und Geschlecht als unabhängigen sowie der Arginin/ADMA – Ratio als abhängigen Variablen durchgeführt. Alle Daten wurden als Mittelwert \pm SD angegeben. Ergebnisse mit einem p – Wert $< 0,05$ wurden als statistisch signifikant angenommen.

ERGEBNISSE

Parodontitispatienten vs. Kontrollgruppe

Die Arginin bzw. ADMA Konzentrationen der untersuchten Gruppen sind in Tabelle 5 dargestellt. Beim direkten Vergleich der Patienten mit schwerer Parodontitis und der zahngesunden Kontrollgruppe konnten wir bei den Parodontitispatienten eine deutlich niedrigere Arginin/ADMA – Ratio ($109,3 \pm 20,9$ vs. $126,1 \pm 32,5$; $p = 0,02$) nachweisen. Auch bei der linearen Regressionsanalyse mit Alter, Nikotin, Body Mass Index, HDL und Geschlecht als unabhängige Variablen blieb der signifikante Unterschied zu den Gruppen bestehen. Während sich die ADMA Konzentrationen der beiden Gruppen nicht signifikant unterschieden ($0,65 \mu\text{mol/l} \pm 0,08$ vs. $0,64 \mu\text{mol/l} \pm 0,08$; $p = 0,56$), konnten wir zeigen, dass bei der Kontrollgruppe im Vergleich zu den Parodontitispatienten signifikant höhere Arginin – Werte vorlagen ($70,3 \mu\text{mol/l} \pm 13,4$ vs. $79,4 \mu\text{mol/l} \pm 19,7$; $p = 0,04$).

Parodontitispatienten vs. Follow up

Die Arginin und ADMA Konzentrationen der Parodontitispatienten wurden vor und nach erfolgreicher parodontaler Therapie evaluiert. Durch die Behandlung der Parodontitis verbesserte sich die Arginin/ADMA – Ratio statistisch signifikant ($109,3 \pm 21,3$ vs. $143,9 \pm 27,9$; $p < 0,01$). Wir konnten zeigen, dass es durch die Therapie einerseits zu einem signifikanten Abfall der ADMA Konzentration kam ($0,65 \mu\text{mol/l} \pm 0,08$ vs. $0,62 \mu\text{mol/l} \pm 0,08$; $p = 0,01$) und andererseits die Arginin Werte signifikant anstiegen ($70,6 \mu\text{mol/l} \pm 13,5$ vs. $87,8 \mu\text{mol/l} \pm 15,7$; $p < 0,01$).

	Kontrollgruppe	Parodontitispatienten	Follow Up
Arginin/ADMA Ratio	126,1 ± 32,5	109,3 ± 20,9 *	143,9 ± 27,9 †
ADMA (µmol/l)	0,64 ± 0,08	0,65 ± 0,08	0,62 ± 0,08 ‡
Arginin (µmol/l)	79,4 ± 19,7	70,3 ± 13,4 *	87,8 ± 15,7 †

Tabelle 5 Arginin/ADMA Werte der einzelnen Gruppen

* $p < 0,05$ vs. Kontrollgruppe

† $p < 0,01$ vs. Parodontitispatienten

‡ $p < 0,05$ vs. Parodontitispatienten

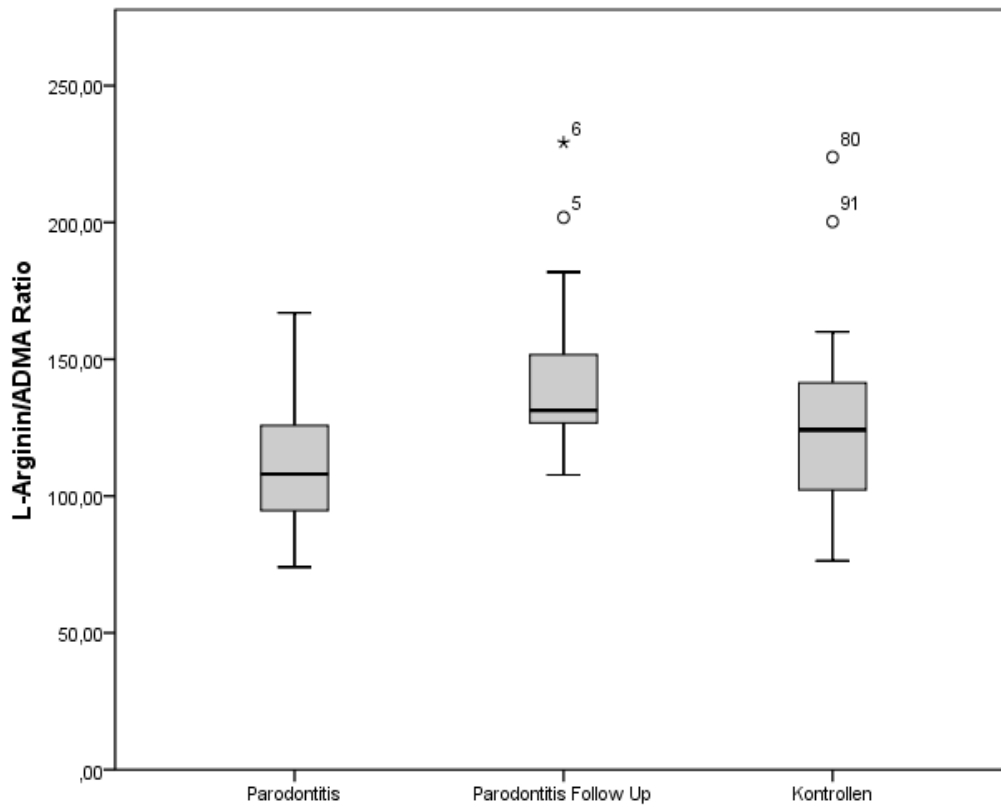


Abbildung 7 L - Arginin/ADMA Ratio bei Parodontitispatienten, nach erfolgreicher Therapie und bei der Kontrollgruppe

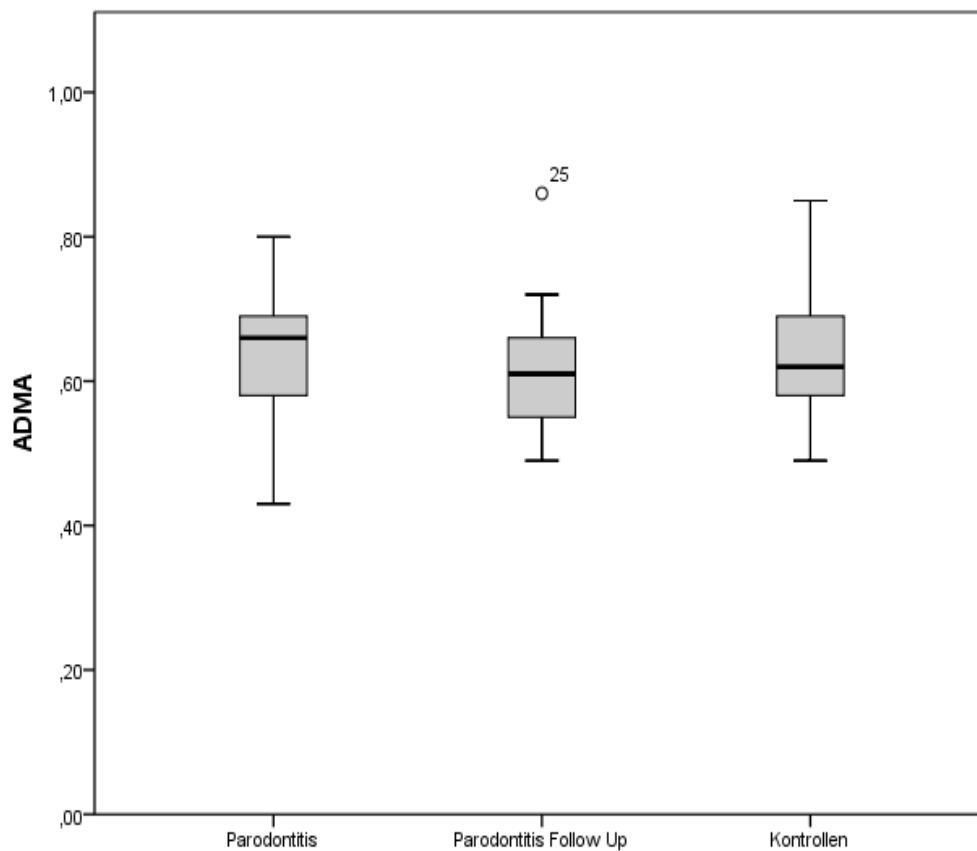


Abbildung 8 ADMA Konzentrationen bei Parodontitispatienten, nach erfolgreicher Therapie und bei der Kontrollgruppe

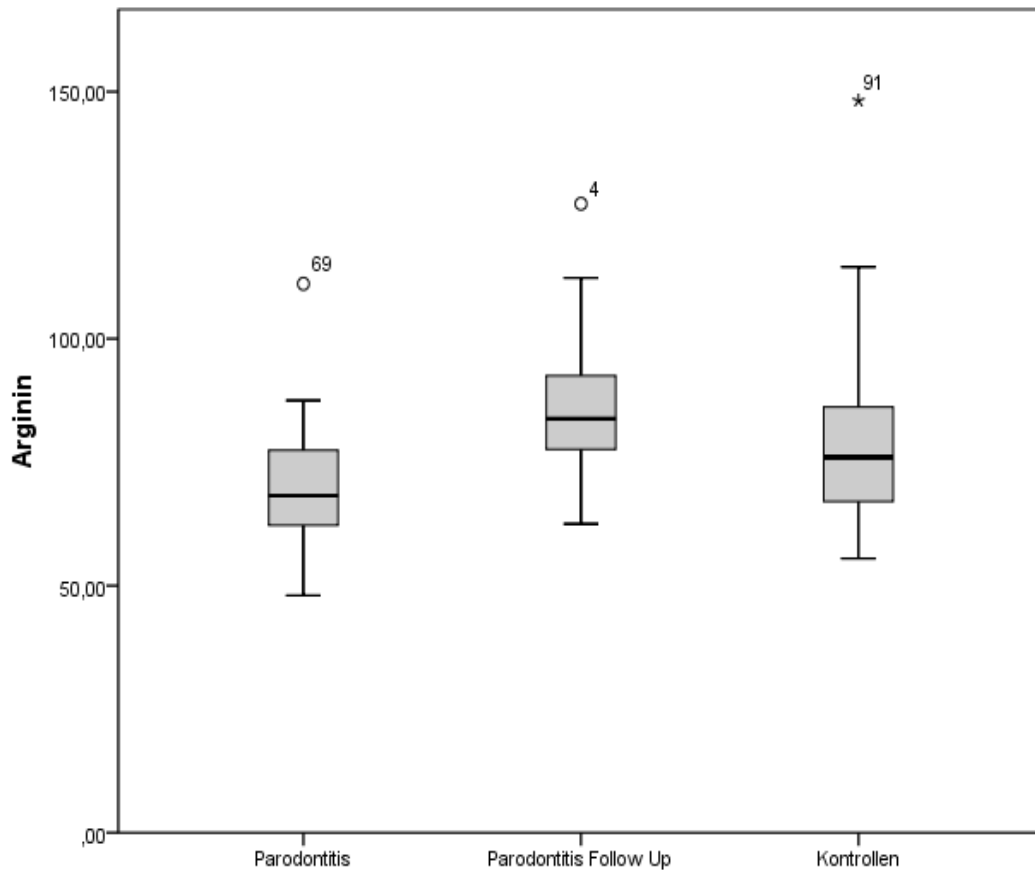


Abbildung 9 Arginin Konzentrationen bei Parodontitispatienten, nach erfolgreicher Therapie und bei der Kontrollgruppe

Durch die gemessenen Arginin und ADMA Konzentrationen konnten wir zeigen, dass die Gruppe der Patienten mit schwerer Parodontitis, im Vergleich zur Kontrollgruppe, eine signifikant erniedrigte Arginin/ADMA – Ratio aufweist. Diese steigt signifikant nach Behandlung der Parodontitis an und übersteigt dann sogar das Niveau der Kontrollgruppe. Bei der Gegenüberstellung der ADMA Werte fällt vor allem der Abfall der ADMA Konzentration nach erfolgreicher Therapie auf, während sich die ADMA Werte zwischen den Parodontitispatienten und den Kontrollen nur geringfügig unterscheiden. Das gemessene Arginin war in der Parodontitisgruppe im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen stark vermindert. Zusammenfassend lassen die Ergebnisse erkennen, dass die niedrigere Arginin/ADMA – Ratio der Parodontitispatienten im Vergleich zu den zahngesunden Kontrollen vor allem auf einer Erniedrigung der Argininkonzentration beruht. Durch die Therapie der Parodontitis kommt es jedoch zu einem Anstieg der Argininkonzentration bei gleichzeitigem Abfall der ADMA Konzentration.

Arginin/ADMA – Ratio und endotheliale Funktion

Wie in Abbildung 10 dargestellt, findet sich bei den Patienten mit besserer endothelialer Funktion, dargestellt durch eine höhere Fluss medierte Vasodilatation auch eine höhere Arginin/ADMA – Ratio. In dem Tertil mit der höchsten FMD konnten wir auch die höchste Arginin/ADMA – Ratio messen, während das Drittel mit der schlechtesten endothelialen Funktion die niedrigste Ratio aufwies. Es besteht somit ein positiver Zusammenhang zwischen Ultraschall gemessener endothelialer Funktion und der Arginin/ADMA – Ratio.

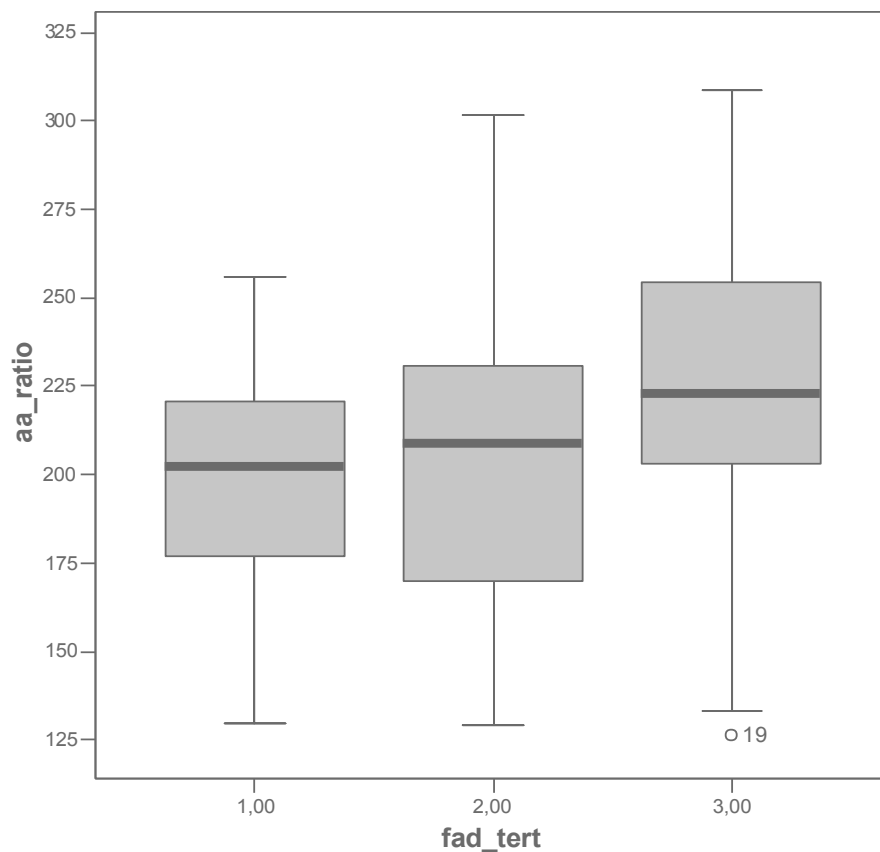


Abbildung 10 Arginin/ADMA – Ratio der Patienten, welche anhand der Funktion des Endothels (dargestellt durch FMD) in Tertile eingeteilt wurden

DISKUSSION

In einer Vielzahl von Studien konnte eine erniedrigte Arginin/ADMA – Ratio bei Patienten mit Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie, Nierenfunktionsstörungen, Typ 2 Diabetes oder peripherer arterieller Verschlusskrankung und auch anderen Erkrankungen gefunden werden.⁷⁴ Mittermayer F et al. konnten in einer Arbeit zeigen, dass Personen nach der Verabreichung von E.coli Endotoxin eine signifikant erniedrigte Arginin/ADMA – Ratio aufwiesen und deuteten damit auf den Zusammenhang der Ratio mit Infektionskrankheiten hin.⁷⁴ Auch eine Studie bei septischen Patienten zeigte, dass Patienten mit schwerer Sepsis im Vergleich zu einer Kontrollgruppe eine deutlich verminderte Arginin/ADMA – Ratio aufwiesen. Es wurde auch gezeigt, dass innerhalb der Gruppe der septischen Patienten, die Überlebenden eine höhere Arginin/ADMA – Ratio hatten als die verstorbenen Patienten.⁷⁵

Somit fügen sich die Ergebnisse unserer Studie gut in die Reihe der vorliegenden Arbeiten ein. Die Arginin/ADMA – Ratio der Parodontitispatienten war, verglichen mit zahngesunden Kontrollen, deutlich vermindert. Unsere Ergebnisse liefern damit einen weiteren Hinweis, dass es im Rahmen von entzündlichen Erkrankungen zu einer Senkung der Arginin/ADMA – Ratio kommt und bekräftigen damit bereits vorliegende Arbeiten, wie jene von Davis JS et al. die ebenfalls eine Verminderung der Ratio bei septischen Personen zeigt.⁷⁶ Die Assoziation von verminderter Arginin/ADMA – Ratio und Parodontitis weist auf einen pathogenetischen Zusammenhang zwischen Parodontitis und endothelialer Dysfunktion und somit eventuell auch auf einen Zusammenhang von Parodontitis und dem kardiovaskulären Outcome hin. Eine neuere Studie zu diesem Thema wurde von Latronico M et al. durchgeführt, der bei kardial beeinträchtigten Patienten eine wesentlich schlechtere parodontale Situation vorfand als bei herzgesunden Kontrollen.⁷⁷

Der signifikante Anstieg der Arginin/ADMA – Ratio nach erfolgreicher Parodontitistherapie zeigt deutlich den Einfluss, einer professionellen Behandlung der Parodontitis auf den Argininstoffwechsel und die endotheliale Funktion. An den Ergebnissen kann man erkennen, dass neben der Verbesserung der parodontalen

Situation auch eine Steigerung der Arginin/ADMA – Ratio auftritt, was mit Verminderung des kardiovaskulären Risikos einhergehen könnte. Denn bereits in mehreren Arbeiten wurde eine hohe Konzentration von asymmetrischem Dimethylarginin als unabhängiger Risikofaktor für ein kardiales Ereignis und auch für die gesamte Mortalität angeführt.⁷⁸

Die verminderte Ratio der Parodontitispatienten beruht sowohl auf erniedrigten Argininwerten, wie auch auf einer erhöhten Konzentration von asymmetrischem Dimethylarginin. Die signifikant verminderten Argininkonzentrationen der Parodontitisgruppe könnten auf einen vermehrten Verbrauch zurückzuführen sein, was auch in einer Arbeit von Popovic PJ et al.²⁴ diskutiert wird. Die Autoren demonstrieren in ihrer Arbeit eine vermehrte Metabolisierung durch die induzierbare NO - Synthase bzw. Arginase in myeloische Zellen, die bei entsprechender immunologischer Stimulation auftritt. Es kommt zu einer vermehrten Ausbildung von kationischen Aminosäuretransportern und damit zu vermehrtem Transport von Arginin in die myeloischen Zellen. Die Aktivität der Enzyme in den Zellen ist dabei genau geregelt. So kommt es vor allem bei Traumen durch Vermittlung der Zytokine Interleukin 4, Interleukin 10, Interleukin 13 und TGF – β oder auch durch Prostaglandine zu vermehrter Aktivität der Arginase. Demgegenüber wird die induzierbare NOS durch die proinflammatorischen Zytokine Interleukin 1, TNF – α , Interferon – γ und durch Endotoxine stimuliert. Nach suffizienter Therapie der Parodontitis konnte in unserer Studie wieder ein Anstieg der Arginin – Konzentration gezeigt werden. In einer Reviewarbeit über den Stellenwert von Aminosäuren im Immunsystem halten Li et al.⁷⁹ fest, dass bei Entzündungen, Traumen oder Verbrennungen eine Arginindefizienz auftreten kann, wobei in diesen Situationen auch eine Arginin – Substitution überlegenswert wäre.

Die ADMA – Konzentrationen der Parodontitisgruppe liegen zwar höher als die der Kontrollgruppe, der Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Die Erklärung dafür könnte die schlechtere Endothelfunktion der Kontrollgruppe im Vergleich zur Gruppe der Parodontitispatienten nach Therapie sein.⁷¹ Möglicherweise haben noch andere kardiovaskuläre Risikofaktoren als die in dieser Studie erfassten in der Kontrollgruppe zu einer schlechteren endothelialen Funktion und damit

korrespondierenden ADMA – Konzentrationserhöhung geführt. Eine Reduktion der Plasma ADMA – Konzentration nach erfolgreicher Therapie ist in Übereinstimmung mit mehreren Studien, die erhöhte ADMA – Konzentrationen während entzündlicher Prozesse nachgewiesen hatten. So konnten Owczarek D et al.⁸⁰ erhöhte Konzentrationen von asymmetrischem Dimethylarginin im Plasma von Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung nachweisen. Auch eine Studie von Aydemir S et al.⁸¹, die einen ähnlichen Ansatz wie unsere Arbeit hatte, lieferte vergleichbare Ergebnisse. In dieser Studie wurde eine Untersuchung der ADMA – Konzentrationen von Patienten mit *Helicobacter pylori* Infektion, vor und nach erfolgreicher Eradikationstherapie, durchgeführt und es zeigte sich, analog zu unserer Arbeit, ein statistisch signifikanter Rückgang von asymmetrischem Dimethylarginin. Die genauen Mechanismen, die zu dem ADMA - Konzentrationsanstiegen bei Parodontitis, H. p. Infektion oder chronisch entzündlichen Darmerkrankungen führen sind bis dato nicht restlos geklärt. Diskutiert wird unter anderem eine eingeschränkte Funktion der Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase. Bei einer in vitro Studie an humanen Endothelzellen der Umbilikalvene wurde, nach Zugabe von TNF – α und oxidiertem LDL, zwar keine reduzierte Expression der DDAHs, aber eine verminderte Aktivität festgestellt, was wiederum erhöhte ADMA – Konzentrationen zur Folge hatte. Eine weitere Untersuchung zeigte bei cholesterinreich ernährten Hasen ebenfalls eine herabgesetzte Aktivität der DDAHs und bestätigte damit den Einfluss von oxidiertem LDL.⁸² Wie in einer Arbeit von Nijveldt RJ et al.⁸³ erwähnt liegen jedoch im Gegensatz dazu noch keine Daten aus in vivo Studien über den Einfluss von TNF – α und anderer Entzündungsmediatoren auf die Dimethylarginin Dimethylaminohydrolase vor.

Asymmetrisches Dimethylarginin, als Inhibitor der NO – Synthese, bzw. eine erniedrigte Arginin/ADMA – Ratio wurden bereits in mehreren wissenschaftlichen Arbeiten als wesentliche Faktoren in der Entstehung von endothelialer Dysfunktion beschrieben.^{84,85,86} Wir konnten in unserer Arbeit zeigen, dass die Patienten mit der besten endothelialen Funktion auch die höchste Ratio aufwiesen und dass, korrespondierend dazu, bei den Personen mit der schlechtesten endothelialen Funktion, auch die niedrigste Arginin/ADMA – Ratio auftrat. Interessante Ergebnisse dazu lieferte auch eine Studie mit nierentransplantierten Patienten, bei denen durch eine Diät mit Sojaprotein eine verbesserte endotheliale Funktion

erreicht werden konnte. Dabei wurde festgestellt, dass der positive Effekt auf das Endothel wesentlich durch eine erhöhte Arginin/ADMA – Ratio vermittelt wurde. Nach Beendigung der Soja Supplementation kam es jedoch wieder zu einem Rückgang der positiven Auswirkungen.⁸⁷ Auch Bode – Böger S et al. konnten durch die orale Verabreichung von reinem Arginin einen deutlichen Anstieg der Arginin/ADMA – Ratio verbunden mit einer Verbesserung der endothelialen Funktion bei älteren Personen bewirken.⁸⁸

Schlussfolgerung

Die negativen Auswirkungen von Parodontitis auf die endotheliale Funktion und die Verbesserung nach erfolgreicher parodontaler Therapie konnten bereits eindeutig nachgewiesen werden.⁷¹ Auch die Schlüsselrolle der endothelialen Dysfunktion in der Pathogenese der Atherosklerose und damit in weiterer Folge der koronaren Herzkrankheit wurde bereits wissenschaftlich untermauert.³⁷ Die Ergebnisse unserer Studie, die eine Assoziation zwischen parodontaler Erkrankung und erniedrigter Arginin/ADMA – Ratio zeigt, liefern wegweisende Details über den möglichen pathomechanistischen Zusammenhang von entzündlichen Erkrankungen des Zahnhalteapparats und endothelialer Dysfunktion. Weiters stellt die Verminderung der Arginin/ADMA – Ratio einen möglichen Ansatzpunkt für eine wirkungsvolle Therapie der endothelialen Dysfunktion im Rahmen von entzündlichen Erkrankungen dar. Ob dadurch letztendlich auch kardiovaskuläre Ereignisse zu verhindern sind müssen entsprechende Endpunktstudien noch zeigen.

1. Böger RH, Maas R, Schulze F, et al. *Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a prospective marker of cardiovascular disease and mortality - An update on patient populations with a wide range of cardiovascular risk*. Pharmacological Research 2009; 60: 481-487
2. Vallance P, Leiper J. *Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004; 24: 1023-1030
3. Bulau P, Zakrzewicz D, Kitowska K et al. *Analysis of methylarginine metabolism in the cardiovascular system identifies the lung as a major source of ADMA*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007; 292: 18-24
4. Lentz SR, Rodionov RN, Dayal S. *Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular risk: the potential role of ADMA*. Atherosclerosis Supplements 2003; 4: 61-65
5. Ogawa T, Masumi K, Kei S. *Dimethylarginine:pyruvate aminotransferase in rats*. The Journal of Biological Chemistry 1990; 265: 20938-20945
6. Leiper J, Vallance P. *Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases*. Cardiovascular Research 1999; 43: 542-548
7. Palm F, Onozato ML, Luo Z et al. *Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems*. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007; 293: 3227-3245
8. Cooke J. *Does ADMA cause endothelial dysfunction?* Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20: 2032-2037
9. Zakrzewicz D, Eickelberg O. *From arginine methylation to adma: a novel mechanism with therapeutic potential in chronic lung disease*. BMC Pulmonary Medicine 2009; 9: 5
10. Kielstein J, Fröhlich JC, Haller H. *ADMA (asymmetric dimethylarginine): An atherosclerotic disease mediating agent in patients with renal disease?* Nephrol Dial Transplant 2001; 16: 1742-1745
11. Böger RH, Bode-Böger S, Szuba A et al. *Asymmetric Dimethylarginine (ADMA): A novel risk factor for endothelial dysfunction*. Circulation 1998; 98: 1842-1847
12. Zhang WR, Hou FF, Ning JP et al. *Level of asymmetric dimethylarginine and carotid atherosclerosis in patients with chronic kidney disease*. Journal of Central South University. Medical Sciences 2006; 31: 621-628
13. Lajer M, Tarnow L, Jorsal A et al. *Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy*. Diabetes Care 2008; 31: 747-752
14. Sari I, Kebapçilar L, Alacacioglu A et al. *Increased levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in patients with ankylosing spondylitis*. Intern Med 2009; 48: 1363-1368
15. Cao Y, Yang K, Zhang Z et al. *Correlation between plasma asymmetric dimethylarginine and different types of coronary heart disease*. Journal of Central South University. Medical Sciences 2010; 35: 301-306
16. Kielstein JT, Impraïm B, Simmel S et al. *Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans*. Circulation 2004; 109: 172-177

17. Morris SM. *Arginine metabolism: boundaries of our knowledge*. Journal of Nutrition 2007; 137:1602-1609
18. Guoyao WU, Morris SM. *Arginine metabolism: nitric oxide and beyond*. Biochem J 1998; 336: 1-17
19. Morris SM. *Arginine: beyond protein*. Am J Clin Nutr 2006; 83: 508–512
20. Böger RH. *The Pharmacodynamics of L-arginine*. Journal of Nutrition 2007; 137: 1650-1655
21. Horn F, Moc I, Schneider N et al. *Biochemie des Menschen*. 3.Auflage 2005 Thieme Verlag, Stuttgart
22. Pubchem. *Arginine – Compound Summary* (CID:6332)
23. Morris SM. *Enzymes of arginine metabolism*. J. Nutr 2004; 134: 2743-2747
24. Popovic PJ, Zeh HJ, Ochoa JB. *Arginine and immunity*. Journal of Nutrition 2007; 137: 1681-1686
25. Morris SM. *Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases*. British Journal of Pharmacology 2009; 157: 922-930
26. Wu G, Bazer FW, Davis TA et al. *Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease*. Amino Acids. 2009; 37: 153-168
27. Munder M. *Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system*. British Journal of Pharmacology 2009; 158: 638-651
28. Satriano J, Kelly CJ, Blantz RC. *An emerging role for agmatine*. Kidney International 1999; 56:1252-1253
29. Regunathan S. *Agmatine: Biological role and therapeutic potentials in morphine analgesia and dependence*. The AAPS Journal 2006; 8: 479-484
30. Humm A, Fritsche E, Steinbacher S et al. *Crystal structure and mechanism of human L-arginine:glycine amidinotransferase*. The EMBO Journal 1997; 16: 3373–3385
31. Masri F. *Role of nitric oxide and its metabolites as potential markers in lung cancer*. Ann Thorac Med. 2010; 5: 123–127
32. Lind DS. *Arginine and Cancer*. J. Nutr. 2004; 134: 2837-2841
33. Wang CC, Chio CC, Chang CH et al. *Beneficial effect of agmatine on brain apoptosis, astrogliosis, and edema after rat transient cerebral ischemia*. BMC Pharmacology 2010; 10: 11
34. Liu L, Rao JN, Zou T et al. *Polyamines regulate c-Myc translation through Chk2-dependent HuR phosphorylation*. Molecular Biology of the Cell 2009; 20: 4885–4898
35. Seinost G, Skerget M, Brodmann M et al. *Die Endothelfunktion*. Arzt + Praxis 2003; 883: 368-372
36. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF et al. *The clinical implications of endothelial dysfunction*. Journal of the American College of Cardiology 2003; 42: 1149-1160
37. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. *Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23: 168-175
38. Lerman A, Zeiher AM. *Endothelial function: cardiac events*. Circulation 2005; 111: 363-368

39. Mohler ER. *Endothelial dysfunction*. Up To Date 2009
40. Davignon J, Ganz P. *Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis*. *Circulation* 2004; 109: 27-32
41. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL. *Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries*. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046-1051
42. Lundmann P, Eriksson MJ, Stühlinger M et al. *Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine*. *Journal of the American College of Cardiology* 2001; 38:111-116
43. Al Suwaidi J, Higano ST, Holmes DR et al. *Obesity is independently associated with coronary endothelial dysfunction in patients with normal or mildly diseased coronary arteries*. *Journal of the American College of Cardiology* 2001; 37:1523-1528
44. Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE et al. *Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels*. *Journal of the American College of Cardiology* 1996; 28: 573-579
45. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. *Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease*. *Circulation* 2000; 101: 1899-1906
46. Gokce N, Keaney JF, Hunter LM et al. *Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function*. *Circulation* 2002; 105:1567-1572
47. Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D et al. *Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of adma in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia*. *Lancet* 2003; 361: 1511-1517
48. Al Suwaidi J, Hamasaki S, Higano ST et al. *Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction*. *Circulation* 2000; 101: 948-954
49. Vita JA, Keaney JF. *Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk?* *Circulation* 2002; 106: 640-642
50. Prasad A, Andrews NP, Padder FA et al. *Glutathione reverses endothelial dysfunction and improves nitric oxide bioavailability*. *Journal of the American College of Cardiology* 1999; 34: 507-514
51. Heitzer T, Ylä HS, Wild E et al. *Effect of vitamin E on endothelial vasodilator function in patients with hypercholesterolemia, chronic smoking or both*. *Journal of the American College of Cardiology* 1999; 33 : 499-505
52. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J et al. *Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients*. *The New England Journal of Medicine* 2000; 342: 154-160
53. Tomasian D, Keaney JF, Vita JA. *Antioxidants and the bioactivity of endothelium-derived nitric oxide*. *Cardiovascular Research* 2000; 47: 426-435
54. Levine GN, Frei B, Koulouris SN et al. *Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease*. *Circulation* 1996; 93:1107-1113
55. Thing HH, Timimi FK, Haley EA et al. *Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans with hypercholesterolemia*. *Circulation* 1997; 95: 2617-2622
56. Andrews NP, Prasad A, Quyyumi AA et al. *N-acetylcysteine improves coronary and peripheral vascular function*. *Journal of the American College of Cardiology* 2001; 37: 117-123
57. Creager MA, Gallagher SJ, Girerd SM et al. *L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans*. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248-1253

58. Maxwell AJ, Zapien MP, Pearce GL et al. *Randomized trial of a medical food for the dietary management of chronic, stable angina*. Journal of the American College of Cardiology 2002; 39: 37-45
59. Mullen MJ, Wright D, Donald AE et al. *Atorvastatin but not L-arginine improves endothelial function in type I diabetes mellitus: a double-blind study*. Journal of the American College of Cardiology 2000; 36: 410-416
60. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS et al. *Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease*. N Engl J Med 1995; 332: 481-487
61. Bonetti PO, Lerman LO, Napoli C et al. *Statin effects beyond lipid lowering – are they clinically relevant?* European Heart Journal 2003; 24: 225-248
62. Mancini J, Henry GC, Macaya C et al. *Angiotensin-converting enzyme inhibition with Quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease*. Circulation 1996; 94: 258-265
63. O'Driscoll G, Green D, Rankin J et al. *Improvement in endothelial function by angiotensin converting enzyme inhibition in insulin-dependent diabetes mellitus*. J Clin Invest 1997; 100: 678-684
64. Wassmann S, Hilgers S, Laufs U et al. *Angiotensin II type 1 receptor antagonism improves hypercholesterolemia-associated endothelial dysfunction*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002; 22: 1208-1212
65. Prasad A, Tupas-Habib T, Schenke WH et al. *Acute and chronic angiotensin 1receptor antagonism reverses endothelial dysfunction in atherosclerosis*. Circulation 2000; 101: 2349-2354
66. Schwenzler N, Ehrenfeld M. *Zahn-Mund-Kieferheilkunde 3.Band Zahnärztliche Chirurgie*. 3. Auflage 2000 Thieme Verlag Stuttgart
67. Gängler P, Hoffmann T. *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie 3.Auflage* 2010 Thieme Verlag Stuttgart
68. Hellwig E, Klimek J, Attin T. *Einführung in die Zahnerhaltung*. 5.Auflage 2009 Deutscher Ärzte Verlag Köln
69. Micheelis W, Hoffmann T, Holtfreter B et al. *Zur epidemiologischen Einschätzung der Parodontitislast in Deutschland*. Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift 2008; 7: 464-472
70. Rieder A. *Epidemiologie der Herz-Kreislauf-Erkrankungen*. Journal für Kardiologie – Austrian Journal of Cardiology 2004; 11: 3-4
71. Seinost G, Wimmer G, Skerget M et al. *Periodontal treatment improves endothelial dysfunction in patients with severe periodontitis*. Am Heart J 2005; 149: 1050-1054
72. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care 2003; 26: supplement
73. Meinitzer A, Puchinger M, Winklhofer-Roob BM et al. *Reference values for plasma concentrations of asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and other arginine metabolites in men after validation of a chromatographic method*. Clinica Chimica Acta 2007; 384: 141-148
74. Mittermayer F, Namiranian K, Pleiner J et al. *Acute escherichia coli endotoxaemia decreases the plasma L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio in humans*. Clinical Science 2004; 106: 577-581

75. Gough MS, Morgan MA, Mack CM et al. *The ratio of arginine to dimethylarginines is reduced and predicts outcomes in patients with severe sepsis*. Crit Care Med 2011; 39: 1-8
76. Davis JS, Darcy CJ, Yeo TW et al. *Asymmetric dimethylarginine, endothelial nitric oxide bioavailability and mortality in sepsis*. Plos One 2011; 6: e17260
77. Latronico M, Segantini A, Cavallini F et al. *Periodontal disease and coronary heart disease: an epidemiological and microbiological study*. New Microbiologica 2007; 30: 221-228
78. Sibal L, Agarwal SC, Home PD et al. *The role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in endothelial dysfunction and cardiovascular disease*. Current Cardiology Reviews 2010; 6: 82-90
79. Li P, Yin YL, Li D et al. *Amino acids and immune function*. British Journal of nutrition 2007; 98: 237-252
80. Owczarek D, Cibor D. *Asymmetric dimethylarginine (ADMA), symmetric dimethylarginine (SDMA), arginine, and 8-iso-prostaglandin F2a (8-iso-PGF2a) level in patients with inflammatory bowel diseases*. Inflamm Bowel Dis 2010; 16: 52-57
81. Aydemir S, Eren H, Tekin IO et al. *Helicobacter pylori eradication lowers serum asymmetric dimethylarginine levels*. Mediators of Inflammation 2010; Article ID 685903
82. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S et al. *Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase*. Circulatio 1999; 99: 3092-3095
83. Nijveldt RJ, Teerlink T, van Guldener C. *Handling of asymmetrical dimethylarginine and symmetrical dimethylarginine by the rat kidney under basal conditions and during endotoxaemia*. Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 2542-2550
84. Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M et al. *ADMA levels correlate with proteinuria, secondary amyloidosis, and endothelial dysfunction*. J Am Soc Nephrol 2008; 19: 388-395
85. Kinugasa S, Shinohara K, Wakatsuki A. *Increased asymmetric dimethylarginine and enhanced inflammation are associated with impaired vascular reactivity in women with endometriosis*. Atherosclerosis 2011; 219: 784-788
86. Hirata J, Nagata D, Suzuki E et al. *Diagnosis and treatment of endothelial dysfunction in cardiovascular disease*. Int Heart J 2010; 51: 1-6
87. Cupisti A, Ghiadoni L, D'Álessandro C et al. *Soy protein diet improves endothelial dysfunction in renal transplant patients*. Nephrol Dial Transplant 2007; 22: 229-234
88. Bode-Böger S, Muke J, Surdacki A et al. *Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years*. Vasc Med 2003; 8: 77

- Abbildung 1** Arginin und die 3 Formen der methylierten Arginine
- Abbildung 2** Zusammenhang zwischen ADMA und Homocystein
- Abbildung 3** Homöostase ADMA und NO
- Abbildung 4** Argininsynthese
- Abbildung 5** Argininabbau
- Abbildung 6** Argininstoffwechsel
- Abbildung 7** L - Arginin/ADMA Ratio bei Parodontitispatienten
- Abbildung 8** ADMA Konzentrationen bei Parodontitispatienten
- Abbildung 9** Arginin Konzentrationen bei Parodontitispatienten
- Abbildung 10** L-Arginin/ADMA Ratio nach Tertilen der Endothelialen Funktion

Tabelle 1	Normwerte Arginin
Tabelle 2	Bewertungskriterien und Behandlungskonsequenzen des CPITN
Tabelle 3	CPI Prävalenzen in Deutschland
Tabelle 4	Basiswerte Patienten
Tabelle 5	Ergebnisse Arginin/ADMA Ratio, Arginin und ADMA