

Robert Muntendorf - Dr. Felix Schönfeldt

### Hufrehe Ein neuer Behandlungsansatz über den StickstoffmonoxidSignalweg mittels Arginin 4.0

### **Einleitung**

Schon über drei Jahrzehnte beschäftigt sich die Wissenschaft mit dem Gefäßmolekül Stickstoffmonoxid, kurz Stickstoff oder NO.

Erste größere Bekanntheit erlangte der Botenstoff, nachdem die drei US-amerikanischen Wissenschaftler Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro und Ferid Murad "Für die Erforschung der Wirkungen von Stickstoff als Signalmolekül im menschlichen Herz-Kreislauf- und Gefäßsystem" 1998 mit dem Nobelpreis für Medizin geehrt wurden.

Seither sind die Forschungsarbeiten zum sogenannten Masterregulator des Herz-Kreislauf-Systems regelrecht explodiert. Anfang 2019 listete die Wissenschaftsdatenbank pubmed.gov für das Stichwort "Nitric Oxide" über 160.000 Arbeiten auf – und deren Anteil steigt täglich.

Stickstoffmonoxid wird im Endothel, der Grenzschicht zwischen Blut und Media, von dem Enzym endotheliale NO-Synthase (kurz: eNOS) produziert. Dem Endothel kommt in diesem Zusammenhang eine zentrale Bedeutung zu. Beim Menschen wird es aufgrund seiner Zellzahl (6 x  $10^{13}$ ), Masse (1,5 kg) und Oberfläche (1.000 m²) inzwischen als eigenständiges Organ betrachtet.

Mit der Entdeckung von NO zeichnete sich ab, dass das Endothel über autokrine ("intrazelluläre"), epikrine ("über die Endotheloberfläche vermittelnde") und parakrine ("durch Freisetzung von Mediatoren vermittelnde") Signalwege die Kommunikation zwischen Intravasalraum, Gefäßwand und Gewebe ermöglicht und dadurch lebenswichtige homöostatische Funktionen wahrnimmt. So reguliert das Endothel durch Freisetzung von NO die Blutgerinnung, den Gefäßtonus, die Adhäsion und trans-endotheliale Migration von Monozyten sowie die Proliferation von Gefäßwandzellen. Ein Versagen bzw. Fehlsteuerung dieser komplexen Endothelfunktion, die durch einen Mangel an der Produktion von NO charakterisiert ist, wird bei akuten und chronischen kardiovaskulären Erkrankungen wie zum Beispiel Arteriosklerose, Thrombosen, Hypertonie und Diabetes beobachtet.

Im Jahr 2010 bildete sich um Prof. Rainer Böger, Leiter des pharmakologischen Instituts der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf und ein weltweit führender Forscher für L-Arginin und Stickstoffmonoxid, ein naturheilkundlich orientierter Interessenkreis. Die Gruppe setzte sich das Ziel, eine natürliche Formulierung für die NO-Bildung zu finden. Nach über sieben Jahren Forschung konnte ein solcher Wirkstoffkomplex identifiziert werden. Er wird aktuell als Arginin 4.0 der Öffentlichkeit zugänglich gemacht. 2017 änderte sich die Zusammensetzung



der Interessensgruppe, da sich neue Schwerpunkte herauskristallisierten. Anfang 2018 stellten sich Robert Muntendorf, ein Gründungsmitglied der Gruppe, und Dr. Felix Schönfeldt der Aufgabe, den Wirkstoffkomplex Arginin 4.0 einer breiten Öffentlichkeit über das Portal <a href="https://www.arginin.de">www.arginin.de</a> zugänglich zu machen.

Mitte 2018 wurde Robert Muntendorf mit einem Hufrehe-Fall aus dem Bekanntenkreis konfrontiert. Die Beschäftigung mit dem Pferd und der Erkrankung führte zur Annahme, dass die Hufrehe mit einem funktionellen Zusammenbruch der Endothelfunktion und einem daraus resultierenden NO-Mangel im Zusammenhang stehen könnte.

Eine erste Fütterung mit dem L-Arginin 4.0 verbesserte rasch die Symptomlage. Schon nach sechs Wochen kontinuierlicher Fütterung war das Beschwerdebild komplett abgeklungen! Es folgten weitere Fälle in verschiedenen Stadien, bei denen ebenfalls eine Abheilung beobachtet werden konnte. Motiviert von diesen Einzelfällen wurde in Zusammenarbeit mit dem Pharmakologen Dr. Felix Schönfeldt folgende Hypothese aufgestellt:

Wenn die Hufrehe auf einer Schädigung des Endothels und einer damit einhergehenden verminderten NO-Bildung durch Endotoxine, Gefäßmediatoren, Glukokortikoide oder Überlastung basiert, dann sollte die Fütterung eines Arginin-4.0-Präparats die Endothelfunktionalität wiederherstellen und so die Symptomatik signifikant verbessern bzw. zum Abklingen bringen.

Aktuell arbeitet die Forschungsgruppe an der fundierten und überprüfbaren Bestätigung dieser Hypothese. Die bisherigen Arbeitsergebnisse deuten auf ihre Richtigkeit hin. Den ersten theoretischen Background liefert die vorliegende Zusammenstellung.

In dieser stellen wir die Erkrankung Hufrehe zunächst mit Blick auf die Blutgefäßveränderung sowie der damit einhergehenden Komplikationen Durchblutungsverschlechterung, Bluthochdruck und Thrombusbildung dar. Der zweite Teil kreist um die Endothelfunktion und deren Bedeutung für die Bildung freier Radikaler (ROS), die eine zentrale Rolle im Krankheitsgeschehen der endothelialen Dysfunktion spielen. Im letzten Abschnitt gehen wir auf die Präparation L-Arginin 4.0 und dessen Rolle bei der Wiederherstellung der NO-Produktion im Endothel ein.

Die Übersicht erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Sie will interessierte Fachleute aus dem veterinärmedizinischen Bereich über die Zusammenhänge zwischen endothelialer Dysfunktion und Stickstoffmonoxid sowie daran anknüpfend das therapeutische Potential von Arginin 4.0 informieren.

Hinweis: Die Zusammenstellung macht sich Ergebnisse der Doktorarbeiten von Dr. Sabrina Glöckner ("Eine retrospektive Studie über die Hufrehe bei Pferden", Berlin 2002) und Dr. Felix Schönfeldt ("Optimierung des NO-Redox-Gleichgewichtes mittels pflanzlicher Extrakte", Hamburg 2017) zu Eigen. Wir möchten Frau Dr. Sabrina Glöckner an dieser Stelle für die Genehmigung der Übernahme teilweiser ganzer Kapitel nochmals danken.



### Inhaltsverzeichnis:

### Einleitung

- 1. Die Erkrankung Hufrehe
- 1.1. Blutgefäßveränderungen
- 1.2. Blutgerinnung
- 1.3. Bluthochdruck
- 1.4. Schäden der Huflederhautblättchen
- 1.5. Therapie der Hufrehe
- 2. Das Endothel
- 2.1. Stickstoffmonoxid (NO)
- 2.2. NO-Stoffwechsel
- 2.3. Endotheliale Dysfunktion
- 2.4. eNOS-Entkopplung
- 2.5. Glukokortikoide
- 2.6. Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)
- 2.7. Entstehung und Produktion
- 2.8. Pathologische Bedeutung
- 2.9. Abwehrmechanismen
- 2.10. Oxidativer Stress
- 2.11. Sekundäre Pflanzenstoffe
- 3. Der NO-steigernde und ROS-stabilisierende Wirkstoffkomplex L-Arginin 4.0
- 3.1. Entwicklungen eines Arginin-4.0-Präparates
- 3.2. Aufbau eines Arginin-4.0-Präparates
- 3.3. Mengenverhältnisse und Dosierung
- 4. Ausblick

### Literatur



### 1. Die Erkrankung Hufrehe

Die Hufrehe ist eine Stoffwechselstörung mit Manifestation in den Hufen [1]. Sie kann durch verschiedene Ursachen ausgelöst werden:

- **Fütterungsrehe:** Kohlenhydratüberschuss und eine daraus resultierende Schwemme von Giftstoffen in der Dickdarmflüssigkeit und im Blutplasma [1,2,3,4].
- Überbelastung einer Gliedmaße: Zum Beispiel als Folge einer Lahmheit der Gliedmaße der entgegengesetzten Körperseite [1,3,4,5,6,7,8].
- **Managementfehler:** Aufnahme kalten Wassers bei überhitzten Pferden, Arbeit auf zu hartem Boden, Übergewicht, zu starkes oder falsches Kürzen der Hufe [1,6,9].
- Erkrankungen: Gebärmutterentzündung durch Nachgeburtsverhaltung [1,2,4,5,10,11] Lungenerkrankungen bzw. Viruserkrankungen des Respirationstraktes [2,3,4], nach Gabe hoher Dosen Glukokortikoide bzw. Langzeit-Kortikosteroide bei der Behandlung kortisonwirksamer Krankheiten [1,3,4,12,13,14].
- **Endotoxine:** Bakterielle Zerfallsprodukte, die bei Kontakt mit den Schleimhäuten und Übertritt ins Blut physische Reaktionen auslösen [1,6,15].

Nach COFFMAN [16] kann die Entstehung und Entwicklung der Hufrehe in zwei den Organismus betreffende Möglichkeiten unterteilt werden:

- 1. Veränderung der Blutgefäßbeweglichkeit
- 2. Gerinnungsstörung

HOOD [17] unterscheidet drei Hypothesen:

- Es besteht eine gestörte Funktion der Gefäße (Erweiterung Zusammenziehen).
- 2. Toxische Stoffwechselprozesse, die von einem Angriff auf die Oberhautzellen ausgehen.
- 3. Eine direkte Schädigung des Gefäßsystems in der Huflederhaut.

Grundlage dieser Hypothesen ist eine Stoffwechselentgleisung, die ihren Ursprung in einem Kohlenhydratüberschuss, einer Endotoxinstreuung bei Kolik oder einer Nachgeburtsverhaltung hat.

So unterschiedlich die Auslöser sind, alle bewirken eine Veränderung der Blutzirkulation in den Hufen bis hin zu einer lokalen Minderdurchblutung in der Huflederhaut. Die Gefäßveränderungen, die sich durch einen erhöhten Gefäßwiderstand zeigen, behindern den Blutabfluss aus den Huflederhautkapillaren. Dadurch steigt der kapillare Druck und es tritt Flüssigkeit in das Hufinnere aus. Der zunehmende Druck behindert die Mikrozirkulation des Blutes und bewirkt eine Blutarmut in der Huflederhaut. In der Folge entstehen Blutgerinnsel.

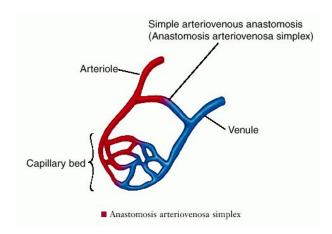
Diese mangelnde Versorgung mit Blut bei der Hufrehe wurde von den Autoren durch lichtund elektronenmikroskopische Untersuchungen, angiographische oder szintigraphische Techniken dargestellt [18,19,20,21,22,23].

### 1.1. Blutgefäßveränderungen



Der Ausgangspunkt der Zirkulationsstörung sind die Venen. Sie zeigen bei Erkrankung einen erhöhten Gefäßwiderstand [24] und reagieren zudem stärker auf Gefäßmediatoren [22,25]. Die Minderdurchblutung kann eine Gefäßverengung, ausgelöst durch Gefäßmediatoren oder eine Vasokompression, wie bei der Belastungsrehe, als Ursache haben [26,27,28]. Eine Venenverengung behindert den Abfluss des Blutes aus den Huflederhautkapillaren [22,24]. Daraus entsteht ein zunehmender Kapillardruck und durch einfache hydrostatische Bewegung tritt Flüssigkeit in den Interstitialraum ein. Der zunehmende Druck behindert die Mikrozirkulation im Gewebe, bewirkt die mangelnde Versorgung in der Huflederhaut und schafft die notwendigen Voraussetzungen für die Entstehung von Mikrothromben [22,27].

Zusätzlich kommt es zur Öffnung von arteriovenösen Anastomosen (AVAs):



Den AVAs werden eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Hufrehe zugeschrieben. Da die AVAs den geringeren Widerstand haben, fließt das Blut unter Umgehung des Kapillarbettes von den Arterien direkt in die Venen [29]. Zahlreiche AVAs wurden an der Basis entlang der Lederhautblättchen und am Kronsaum gefunden [30,31]. Es konnte eine Abhängigkeit zwischen dem Grad der klinisch feststellbaren Lahmheit und der verminderten Durchblutung sowie der Anzahl der AVAs dargestellt werden [20].

### 1.2. Blutgerinnung

Der Blutgerinnung in den Blutgefäßen kommt bei der Hufrehe eine besondere Bedeutung zu, da sie einen vielversprechenden therapeutischen Ansatz bietet. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen ließen Degenerationen der kapillaren Endothelzellen erkennen, die im Sinne einer gestreuten Gerinnung im Blutgefäß (disseminierten intravasalen Gerinnung-DIG) zu Mikrozirkulationsstörungen führten [32].

### 1.3. Bluthochdruck

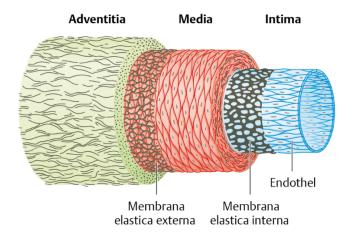
Ein weiterer Forschungsschwerpunkt ist der systemische Bluthochdruck während der Rehe [16,22,33,34,35,36]. Bei einer futterinduzierten Hufrehe geht Flüssigkeit über das Darmlumen verloren und die dabei entstehende Verminderung der im Blutkreislauf befindenden Menge Blut lässt über die Reninfreisetzung Angiotensin II entstehen [22].

Die bisher beschriebenen Mechanismen, die die mangelnde Versorgung mit Blut in der Huflederhaut verursachen, werden durch den Bluthochdruck in ihrer Wirkung verstärkt. Durch den Sauerstoffmangel in der erkrankten Huflederhaut kommt es zu erhöhter Schmerzhaftigkeit und Nekrosen der Huflederhautblättchen.

Ein weiterer in den letzten Jahren diskutierter Wirkungsmechanismus für die Entstehung der Hufrehe ist der L-Arginin-Stickstoffmonoxid-Weg [37]. Endotheliales Stickstoffmonoxid wird durch die endotheliale NO-Synthase aus L-Arginin im Endothel gebildet.

NO wird stetig aus dem Endothel freigesetzt. Substanzen wie Acetylcholin, Bradykinin und aus Thrombozyten stammende Faktoren wie Serotonin fördern die Freisetzung von NO weiter. ELLIOT et al. [38] konnten eine Verbindung nachweisen zwischen dem Stickstoffmonoxid-Weg und der Vermittlung von endothelabhängiger Relaxation durch Carbochol und Bradykinin in den Zehenvenen von Pferden. Eine Infusion von 10 % L-Arginin in physiologischer Kochsalzlösung bewirkte eine Gefäßerweiterung im Huf von gesunden Ponys und eine Wiederdurchblutung der Lederhaut von Ponys mit akuter Hufrehe.

Durch die vermehrte NO-Bildung kann das ursächliche Krankheitsgeschehen für Hufrehe gezielt und sehr effektiv behandelt werden.



### 1.4. Schäden der Huflederhautblättchen

Am Ende der Kaskade mikrozirkulatorischer Entgleisungen bei der Hufrehe steht die Bildung von Gewebsnekrosen in den Huflederhautblättchen. Die Nekrosen der Huflederhautblättchen beginnen mit der Loslösung der Basalmembran und der fehlenden Zusammenheftung der Basalzellen der Oberhaut. Die Folge ist ein Zusammenbruch der Blättchenarchitektur [39]. Diese Fehlorganisation der Strukturen kann in einer unkontrollierten Überproduktion bestimmter Enzyme, den Metalloproteinasen, begründet sein [40].

Durch eine Mikrozirkulationsstörung kommt es zu einer Minderversorgung mit keratinogenen Substraten und bereits im akuten Stadium zu elektronenmikroskopisch



erkennbaren Defekten der Synthese und Aggregation der keratinogenen Filamente, wodurch der Zellzusammenhalt erheblich gestört ist [21]. Der hierdurch entstandene Hohlraum wird mit Narbenhorn aufgefüllt [4,8,41,42].

Bei der chronischen Hufrehe treten in Folge der Nekrosen Zusammenhangstrennungen in allen Bereichen des bindegewebigen und epithelialen Anteils des Hufbeinträgers auf. Es kommt zu einer Hufbeinsenkung und durch den Zug der tiefen Beugesehne zusätzlich zur Rotation des Hufbeines [1,43,44,45].

Die gestörte Blutversorgung ist der Schlüssel für die akute Phase der Hufrehe. Bei einer ausbleibenden Behandlung resultiert eine Rotation und/oder eine Absenkung des Hufbeines [46]. Die Absenkung und Rotation des Hufbeines bewirken eine zusätzliche Reduktion der Blutversorgung [47,48,49].

Zentraler Ansatzpunkt für die Aufrechterhaltung der Durchblutung ist der Schutz und die Wiederherstellung der Funktionen des Endothels. Das Endothel als innerste Gefäßschicht mit allen beschrieben Funktionen ist vom Menschen übertragbar auf alle Säugetiere.

### 1.5. Therapie der Hufrehe

Die folgenden Informationen zur Therapie der Hufrehe sind dem Hufrehe-Leitfaden der Gesellschaft für Pferdemedizin (GPM) von 2017 entnommen. https://www.bundestieraerztekammer.de/tieraerzte/leitlinien/

Das Prinzip bei der Behandlung der Hufrehe des Pferdes besteht darin, die Ursache zu beseitigen, die Grundkrankheit zu behandeln und Schäden am Hufbeinträger durch eine engmaschige Kontrolle des Krankheitsverlaufes zu begrenzen.

Die Therapie unterscheidet generell zwischen dem akuten sowie dem chronischen Stadium. Das akute Stadium umfasst drei Maßnahmenbereiche:

- 1. Allgemeine Maßnahmen
- 2. Medikamentöse Maßnahmen
- 3. Orthopädische Maßnahmen

### Therapieempfehlungen im akuten Stadium:

- 1. Allgemeine Maßnahmen:
  - Kälteanwendung initial über 2-3 Tage (Eisbad, Cool-pads etc.)
  - Boxenruhe bei tiefer, weicher Einstreu
  - Hufverband mit Unterstützung der hinteren Hufhälfte, evtl. mit Trachtenhochstellung
  - Heufütterung
- 2. Medikamentöse Maßnahmen:
  - Falls notwendig, dem Krankheitsgrad entsprechend medikamentöse analgetische und antiphlogistische Therapie
  - Brust-Bauch-Lage anstreben (z. B. Acepromazin)
- 3. Orthopädische Maßnahmen:



- Wenn nötig/möglich Beschlag entfernen oder Zehennägel ziehen
- Hufkorrektur nur bei mangelhafter Hufpflege (überlange Zehe)
- Unterstützung der hinteren Hufhälfte, z. B. Rehegips bzw. alternative
   Maßnahmen mit Strahlunterstützung (Freilassen der Sohle vor der Strahlspitze)

### Therapieempfehlungen im chronischen Stadium:

- 1. Chronisch instabile Hufrehe:
  - Fortsetzung der Maßnahmen des akuten Stadiums bis ein chronisch stabiles Stadium erreicht ist.
- 2. Chronisch stabile Hufrehe:
  - Tiefe und weiche Einstreu
  - Bewegung auf weichem Untergrund und nicht unter Zwang
  - Systemische Maßnahmen:
    - Restriktive Fütterung, Zink und Biotin nach Bedarf
    - Medikamentöse Maßnahmen (Schmerztherapie, Therapie der Grundkrankheit)
    - Dopamin-Agonist bei Equinem Cushing Syndrom (ECS, PPID)

Orthopädische Maßnahmen erfolgen gemäß der tierärztlicher Verlaufs- und Röntgenkontrolle. Für beschlagtechnische Maßnahmen (einschl. Klebeschuh/-eisen) bei chronischer Hufrehe existieren keine einheitlichen Empfehlungen. Die Grundlage hierfür sind der Röntgenbefund und der Gangkomfort des Pferdes. Dabei finden folgende Prinzipien Berücksichtigung:

- Hufsohle schonen
- Hintere Hufhälfte regulär kürzen
- Zehe kürzen, um den Abrollpunkt palmar/plantar zu verlagern



### 2. Das Endothel

Das Endothel ist eine einzellige Schicht aus Endothelzellen, welche die Innenseite von blutleitenden Gefäßen auskleidet. Aufgrund seiner anatomischen Lage wurde bei der Entdeckung des Endothels davon ausgegangen, dass es lediglich die Bedeutung einer physikalischen Barriere zwischen Gefäßlumen und vaskulärer Media innehat.

Seit ihrer Entdeckung im Jahr 1929 hat die Erforschung der Endothelzellen viele wichtige Erkenntnisse über die Bedeutsamkeit dieser Grenzschicht hervorgebracht und damit vor allem für die Atherosklerose potentielle Therapieziele eröffnet.

Da das Endothel im gesunden Zustand eine antithrombotische Oberfläche darstellt, verhindert es die Adhäsion und Aggregation der zirkulierenden Blutzellen an der Gefäßoberfläche. Damit ist das Endothel ein essentieller Bestandteil bei der Aufrechterhaltung des Blutflusses. Bei einer Verletzung der Endotheloberfläche kommt es infolge einer hämostatischen Antwort zur Bildung eines Thrombus, welcher bei einer akuten Verletzung den Verlust von Blut verhindert. Durch ein erhöhtes Thromboserisiko stellt eine chronische Beeinträchtigung der antithrombotischen Oberfläche des Endothels einen wichtigen Risikofaktor für die Entstehung von Atherosklerose dar.

Unter gesunden Bedingungen kann das Endothel Makromoleküle in Abhängigkeit von deren Eigenschaften, Größe und Ladung beschleunigt oder verlangsamt durch die Endothelzellschicht transportieren. Eine Beeinträchtigung der natürlichen Funktion des Endothels als selektive permeable Barriere führt zu einem beschleunigten Transport von Lipoproteinen. Dadurch wird die Entstehung von atherosklerotischen Läsionen forciert [50].

Das Endothel hat nicht nur eine Funktion als Sensor und Empfänger, sondern kann infolge der Bildung von Stoffen ebenfalls als Signalgeber fungieren. Auf dieser Basis kann das Endothel verschiedene Gleichgewichte in beide Richtungen beeinflussen: Beispielsweise wird das Gefäß durch die Sekretion von Stickstoffmonoxid oder Prostacyclin relaxiert.

Demgegenüber steht die vasokonstriktive Wirkung von Endothelin-1 und Angiotensin II, welche ebenfalls vom Endothel produziert werden. Bei der Beeinflussung von Inflammation, der Hämostase und vaskulärem Wachstum sind vergleichbare Effekte zu beobachten. Das Endothel kann somit in den dynamischen Gleichgewichten sowohl den agonistischen als auch den antagonistischen Anteil verstärken (Tabelle 1) [51].

Relaxation	Kontraktion	
Gefäßtonus		
Stickstoffmonoxid	Endothelin-1	
Prostacyclin	Angiotensin II	
EDHF	Adrenalin	
Hemmung	Induktion	
Inflammation		
Stickstoffmonoxid	Cytokine (IL-1β, IL-1α, M-CSF, GM-CSF	
Prostacycin	Chemokine (IL-8, MCP-1)	
Antioxidative Enzyme	ELAMs	
Komplementregulierende Faktoren	E-, P-Selektine, ICAM-1, VCAM-1	
Kininase II	L-Selektin-Liganden	
Th	rombus	
Prostacyclin	Plättchenaktivierender Faktor	
Thrombomodulin	Gewebefaktor	
Heparin-Proteoglykane	Von Willebrand-Faktor	
Gewebeplasminogenaktivator	Plasminogenaktivator-Inhibitor-1	
Urogenase		
Wachstum		
TGF-β	BFGF	
Heparinsulfate GAGs	VEGF	
Thrombospondin	IGFs	
Stickstoffmonoxid	PDGF	

Tabelle 1: Übersicht der vom Endothel beeinflussten dynamischen Gleichgewichte.

### 2.1. Stickstoffmonoxid (NO)

Stickstoffmonoxid (NO) stellt ein bedeutendes Signalmolekül im kardiovaskulären System dar. Im Jahr 1980 konnten FURCHGOTT et al. zeigen, dass die vasodilatierenden Eigenschaften von Acetylcholin (ACh) in vitro von der Beschaffenheit des Endothels abhängig sind [52]. Bei einer Beschädigung des Endothels wurde keine Relaxation der präparierten Gefäße gemessen. Das führte sie zu dem Schluss, dass es bei der ACh-induzierten Vasodilatation zur Ausschüttung eines endothelabhängigen Relaxationsfaktors (EDRF, engl. "Endothelium Derived Relaxing Factor") kommen muss. 1987 haben MONCADA et al. sowie IGNARRO et al. den Beweis erbracht, dass es sich bei dem vermuteten EDRF um NO handelt [53-54].

Eine NO-induzierte Vasodilatation wird durch die Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur erreicht, welche infolge der Stimulation der löslichen Guanylylcylase und der damit einhergehenden Erhöhung der Konzentration des cyclischen Guanosinmonophosphats (cGMP) erzielt wird [55-56]. Weiter konnte gezeigt werden, dass NO die Plättchenaggregation verhindert sowie die Adhäsion von Leukozyten und Monozyten hemmt [57-58]. Außerdem unterbindet es die Proliferation glatter Muskelzellen und die Oxidation von LDL (engl. "Low Density Lipoprotein") [59-60]. Zusätzlich kommt es bei der Interaktion mit reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) zu deren Inaktivierung, wodurch NO einen wesentlichen Bestandteil der antioxidativen Abwehrmechanismen darstellt (Abbildung 2) [61].

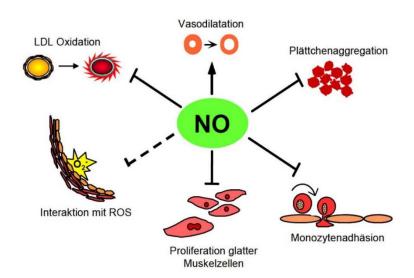


Abbildung 2: Physiologische Effekte des Signalmoleküls Stickstoffmonoxid. Neben der Vasodilatation hemmt Stickstoffmonoxid die Plättchenaggregation, die Monozytenadhäsion sowie die Proliferation glatter Muskelzellen. Zusätzlich interagiert es mit reaktiven Sauerstoffspezies und inhibiert dadurch die Oxidation von LDL. Abbildung modifiziert nach Böger et al. [62].

### 2.2. NO-Stoffwechsel

MONCADA et al. konnten zeigen, dass NO durch NO-Synthasen (NOS) aus der Aminosäure L-Arginin unter Abspaltung von L-Citrullin und Wasser produziert wird [63-64]. Die Co-Faktoren Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH), Tetrahydrobiopterin (BH4), Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD), Flavinmononukleotid (FNM) sowie Calmodulin vermitteln die Synthese (Abbildung 3) [65].

Drei verschiedene Isoformen der NOS sind seither beschrieben worden. Diese unterscheiden sich unter anderem hinsichtlich ihrer Expressionsmuster in verschiedenen Geweben. Zwei Isoformen sind konstitutiv aktive, Calcium- und Calmodulin-abhängige Enzyme, deren physiologische Funktion die Signaltransduktion ist. Dabei handelt es sich um die ursprünglich im Endothel entdeckte endotheliale NOS (eNOS) sowie die zunächst im Nervensystem



Alles, was Sie über Arginin wissen müssen

entdeckte neuronale NOS (nNOS). Die dritte Isoform, die induzierbare NOS (iNOS), ist Calcium-unabhängig. Sie wurde in Makrophagen nachgewiesen und ist kausal zusammenhängend mit der durch Makrophagen ausgelösten Zytotoxizität. Infolge einer Stimulierung mit Cytokinen wird die Transkriptions-regulierte Expression dieser Isoform drastisch gesteigert, infolgedessen pathologisch hohe NO-Mengen produziert werden [66-69].

Asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin (ADMA) ist ein durch posttranslationale Modifikation gebildeter endogener Metabolit und ein Derivat der Aminosäure L-Arginin. Es inhibiert die NO-Synthase kompetitiv und hemmt die Aufnahme vom NOS-Substrat L-Arginin seitens des kationischen Aminosäure-Transporters (y+-Transporter) [70-73]. Es konnte gezeigt werden, dass die Akkumulation von ADMA im Zusammenhang mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für kardiovaskuläre Ereignisse und Mortalität steht [74]. Protein-L-Arginin-Methyltransferasen (PRMT) methylieren L-Arginin-Reste in Proteinen und infolge einer anschließenden Hydrolyse werden diese freigesetzt [75]. Neben dem ADMA werden auf diesem Wege auch die Derivate Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA) und symmetrisches Dimethyl-L-Arginin (SDMA) synthetisiert. Während L-NMMA ebenfalls die NOS kompetitiv hemmt, inhibiert SDMA wie ADMA den y+-Transporter [73, 76].

ADMA wird enzymatisch durch die Dimethyl-L-Arginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) abgebaut oder direkt renal eliminiert [70, 77-78]. Von den zwei bisher beschriebenen Isoformen der DDAH ist die Isoform 1 hauptsächlich in der Leber und Niere sowie in Co-Lokalisation mit der nNOS in neuronalem Gewebe anzutreffen. Demgegenüber wird die Isoform 2 vorzugsweise im vaskulären Gewebe in Co-Lokalisation mit der eNOS exprimiert [77, 79].

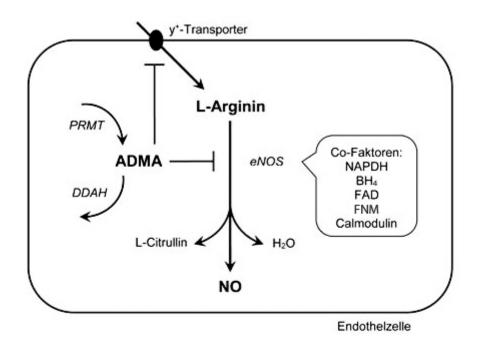


Abbildung 3: Synthese von Stickstoffmonoxid durch die endotheliale NO-Synthase. Die endotheliale NO-Synthase produziert aus der Aminosäure L-Arginin unter Abspaltung von L-Citrullin und Wasser Stickstoffmonoxid (NO). Wichtige Co-Faktoren dieser Reaktion sind Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADPH), Tetrahydrobiopterin (BH4), Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD), Flavinmononukleotid (FNM) sowie Calmodulin. Einen kompetitiven Inhibitor der eNOS stellt das Asymmetrische Dimethylarginin (ADMA) dar. Darüber hinaus hemmt ADMA die Aufnahme von L-Arginin durch den Kationentransproter (y\*-Transporter). Das von Protein-Arginin-Methyltransferasen (PRMT) synthetisierte und durch anschließende Proteolyse freigesetzte ADMA wird enzymatisch von Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolasen (DDAH) abgebaut.

### 2.3. Endotheliale Dysfunktion

Kommt es aufgrund von biochemischen Störungen oder mechanischen Verletzungen des Endothels zu einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit, kann das Endothel seinen physiologischen Funktionen nicht mehr nachkommen. Dann wird von einer endothelialen Dysfunktion gesprochen. Vor allem die Gefäßtonusregulation, die Permeabilität, die Thrombozyten-Aggregationshemmung sowie die Verhinderung der Adhäsion von Leukozyten und Monozyten sind betroffen. Diese Situation steigert massiv das Risiko für die Entstehung von atherosklerotischen Plaques und stellt damit eine Vorstufe für Atherosklerose dar.

Die Dysfunktion resultiert aus einem Mangel von NO, welcher wiederum aus einer verminderten Produktivität der eNOS stammt [80]. Eine erhöhte Konzentration des kompetitiven Inhibitors ADMA kann dafür eine Ursache sein. Klinische Studien zeigten in verschiedenen pathologischen Zuständen, wie chronischem Nierenversagen, Hypercholesterinämie, Herzinsuffizienz, Hypertonie, koronare Herzerkrankungen, Schlaganfall und Diabetes mellitus Typ II, erhöhte ADMA-Konzentrationen [138, 70, 81-89]. Außerdem blockieren erhöhte ADMA-Konzentrationen den y+-Transporter, infolgedessen es zu einem Mangel des Ausgangsproduktes der NO-Synthese L-Arginin kommt [72-73]. Dies stellt einen weiteren Auslöser für eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO dar.



Zusätzlich besteht die Möglichkeit, dass hohe Konzentrationen an ROS und damit oxidativer Stress eine Rolle spielen. Die Interaktion von NO mit ROS vermindert die Bioverfügbarkeit von NO. Des Weiteren können ROS den Co-Faktor der eNOS BH4 oxidieren. Infolgedessen entkoppelt die eNOS und produziert anstatt des antioxidativen NO selbst Radikale in Form von Superoxid-Anionen [90-91]. Außerdem steigern ROS die Expression vom ADMA-produzierenden Enzym PRTM und senken dabei gleichzeitig die Expression des ADMA-abbauenden Enzym DDAH [92-93].

### 2.4. eNOS-Entkopplung

In Studien konnte beobachtet werden, dass die Erhöhung der eNOS-Expression nicht zwangsläufig zu einer vermehrten Produktion von NO führt. Weiterführende Studien konnten darlegen, dass diese Beobachtungen auf dem Phänomen der Entkopplung resultieren.

Der Zustand der Entkopplung tritt vor allem bei verminderter Verfügbarkeit des Substrates L-Arginin oder der Co-Faktoren ein. Von zentraler Bedeutung ist der Co-Faktor Tetrahydrobiopterin (BH4), welcher unter anderem durch oxidativen sowie nitrosativen Stress verringerte Konzentrationen aufweist.

Im Zustand der Entkopplung produziert eNOS anstatt des vasoprotektivem NO schädliche ROS vor allem Superoxid-Anionen. Dies geschieht da die Elektronen nicht auf das Stickstoff-Atom im L-Arginin sondern auf ein Sauerstoff-Atom übertragen werden. Infolgedessen kann Peroxynitrit (ONOO-) entstehen, das wiederum BH4 abbaut und somit zur Verstärkung der negativen Entkopplungseffekten beiträgt. Ein Teufelskreis entsteht, der im ersten Schritt zu erhöhtem oxidativem Stress führt und durch den Wandel von eNOS von einem gefäßschützendem zu einem gefäß-schädigendem Faktor in der endothelialen Dysfunktion endet. [91, 139, 140].

### 2.5. Glukokortikoide

Glucocorticoide vermindern über unterschiedliche Mechanismen die Expression und damit einhergehend die verfügbare Menge am NO-produzierenden eNOS [141]. Dies geht einher mit einem Abfall der Bioverfügbarkeit von NO. Zu messen sind dann reduzierte Plasmaspiegel von NO2-/NO3-, den stabilen Oxidationsprodukte des NO. In der Mikrozirkulation lässt sich nach Glucocorticoid-Behandlung eine Abschwächung der endothelabhängigen Vasodilatation nachweisen. Die funktionelle Relevanz dieser Glucocorticoid-induzierten Herunterregulation der eNOS (und damit der NO-Produktion) zeigt sich in einem signifikanten, reversiblen Anstieg des Blutdrucks [141, 142]

### 2.6. Reaktive Sauerstoffspezies

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) sind chemische Moleküle, die Sauerstoff beinhalten und unter physiologischen Bedingungen hochreaktiv sind. Es werden radikalische und nichtradikalische ROS unterschieden. Die Radikale beziehen ihre Reaktionsfreudigkeit aus einem oder mehreren ungepaarten Valenzelektronen.

Der physiologisch und pathophysiologisch wichtigste Vertreter dieser Gruppe ist das Superoxid-Anion. Zu der Gruppe zählen auch das Hydroxyl- sowie das Hydroperoxyl-Radikal. Demgegenüber stehen die nicht-radikalischen ROS. Diese sind vor allem aufgrund der Konfiguration ihrer Elektronen, beispielsweise deren Spin, hochreaktiv, denn dadurch können sie einen direkten oxidativen Effekt haben oder leicht in ein Radikal umgewandelt werden. Zu dieser Gruppe zählen Wasserstoffperoxid, Ozon sowie Singulettsauerstoff (Tabelle 2).

Radikalische		Nicht-Radikalische	
Superoxid-Anionen	O2-•	Wasserstoffperoxid	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Hydroxyl-Radikal	ОН∙	Ozon	O <sub>3</sub>
Hydroperoxyl-Radikal	HO₂•	Singulettsauerstoff	$^{1}O_{2}$

Tabelle 2: Übersicht der Einteilung der reaktiven Sauerstoffspezies in radikalische und nicht-radikalische ROS anhand einiger Vertreter.

Im Jahr 1900 wurden freie Radikale erstmalig von GOMBERG beschrieben [94]. Aufgrund ihrer hohen Reaktivität und der extremen Kurzlebigkeit wurde jahrelang davon ausgegangen, dass sie keine physiologische Bedeutung haben. Über 50 Jahre später konnten Radikale zum ersten Mal in biologischen Systemen nachgewiesen werden und wurden sofort mit verschiedenen pathophysiologischen Vorgängen in Zusammenhang gebracht [95-96]. Unter anderem veröffentlichte HARMAN 1956 die Theorie der Alterung durch freie Radikale (engl. "The Free Radical Therory of Aging") [97].

Seitdem wuchsen die Erkenntnisse auf dem Gebiet des Einflusses der Radikale enorm, jedoch wurde fast immer von einer schädigenden Wirkung ausgegangen. Die Entdeckung der Superoxid-Dismutase durch MCCORD und FRIDOVICH 1969 als erster enzymatischer Abwehrmechanismus unterstützte diese These [98].

In den darauffolgenden Jahren änderte sich die Auffassung der Bedeutung der ROS. Unter anderem konnte nachgewiesen werden, dass ROS bei der Bekämpfung von Infektionen durch das Immunsystem beteiligt sind [99-100]. Weitere Forschungen ergaben, dass die ROS-Produktion von Hormonen wie Insulin reguliert werden kann [101]. Daher wurde vermutet, dass die Radikale selbst ebenfalls Regulatoren wichtiger Stoffwechselwege sind [102].

Seither konnte eindeutig belegt werden, dass ROS nicht nur schädigende Wirkungen auf den Organismus haben, sondern ebenfalls ein entscheidender Bestandteil wichtiger physiologischer Prozesse sind (Tabelle 3).



Physiologische Bedeutungen von ROS	Referenz
Second Messenger bei Zellwachstum und -differenzierung	[103]
Abwehr von pathogenen Mikroorganismen	[104]
Förderung von Fibrobasten- und Kollagenwachstum im Rahmen der Wundheilung	[105-106]
Thyroxin Biosynthese	[107]

Tabelle 3: Übersicht physiologischer Prozesse mit Beteilung von ROS.

### 2.7. Entstehung und Produktion

Nachdem die Bedeutung der ROS herausgestellt wurde, entstand die Frage nach deren Produktion. Es konnte gezeigt werden, dass 90 % der ROS durch fehlgeleitete Elektronen aus der Energiegewinnung in den Mitochondrien entstehen [108]. Sauerstoff dient dabei als Elektronenakzeptor und wird größtenteils zu Wasser reduziert. Kommt es zu keiner vollständigen Reduktion, entstehen Superoxid-Anionen.

Außerdem produzieren im Rahmen normaler physiologischer Prozesse eine Vielzahl von Oxidoreduktasen, wie Oxidasen und Dehydrogenasen, ebenfalls ROS [109]. Bei Inflammation werden von Makrophagen und anderen Zellen des Immunsystems auch ROS hergestellt [104]. Neben den endogenen Faktoren für die Bildung von ROS spielen auch exogene Noxen und Umwelteinflüsse eine große Rolle.

Es konnte nachgewiesen werden, dass UV-Strahlung, Luftverschmutzung, Drogen (= Medikamente), Alkohol, Rauchen, verschiedene Medikamente, Industriechemikalien wie Pestizide sowie ein Ungleichgewicht in der Darmflora zu einer vermehrten ROS-Produktion führen.

### 2.8. Pathophysiologische Bedeutung

Während die Beteiligung von ROS bei diversen Krankheiten diskutiert wird, konnte diese jedoch bisher nicht in allen Fällen einwandfrei nachgewiesen werden. Fakt ist, dass ROS aufgrund ihrer Reaktivität bei körpereigenen Molekülen wie Nukleinsäuren, DNA, Proteinen und Lipiden strukturelle Modifikationen auslösen, was häufig zum Verlust der jeweiligen Funktion führt (Tabelle 4) [110-111].

Pathophysiologische Bedeutungen von ROS	Referenz
Atherosklerose	[112-113]
Ischämie/Reperfusionsschaden	[114-115]
Diabetes mellitus	[116]
Krebs	[117-118]
Asthma	[119-120]
Rheumatoide Arthritis	[121]
Neurodegenerative Erkrankungen	[122-123]
Leberzirrhose	[124]
Alterung	[125]

Tabelle 4: Übersicht pathophysiologischer Prozesse mit Beteilung von ROS.

### 2.9. Abwehrmechanismen

Um Schäden durch ROS zu verhindern oder zu reparieren, sind Zellen mit einer Vielzahl von Abwehrmechanismen ausgestattet. Das Regulationssystem zur Neutralisierung von ROS umfasst neben antioxidativen, niedermolekularen Substanzen wie beispielsweise Vitamin C auch ROS-abbauende Enzyme. Zusätzlich ist die Zelle mit Enzymen ausgestattet, die das reduzierende Medium der Zellen aufrechterhalten sowie oxidativ geschädigte Zellbestandteile abbauen.

Der enzymatische Abbau der Superoxid-Anionen beginnt mit der Superoxid-Dismutase (SOD), indem es zwei Moleküle des Radikals zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff disproportioniert (Abbildung 4). Bisher sind drei SOD-Isoformen beschrieben worden. Die Isoformen 1 und 3 beinhalten beide sowohl Kupfer als auch Zink im aktiven Zentrum. Während sich die Isoform 1 hauptsächlich im Cytosol befindet, ist die Isoform 3 meist im extrazellulären Raum lokalisiert. Die in den Mitochondrien befindliche Isoform 2 hat im Gegensatz zu den anderen beiden Formen Mangan in ihrem aktiven Zentrum. Die Isoformen werden in allen Geweben stark exprimiert, was die elementare Bedeutung der SOD für den ROS-Schutz des Organismus unterstreicht [98].

Das bei der Disproportionierung entstandene Wasserstoffperoxid wird anschließend von der Katalase (CAT) und der Glutathion-Peroxidase (GPX) weiter abgebaut. Die Katalase disproportioniert zwei Moleküle Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff. Die Aktivität

der Katalase ist abhängig vom Gewebe und dem jeweiligen Kompartiment [126]. Die Glutathion-Peroxidase reduziert Wasserstoffperoxid zu Wasser unter dem Verbrauch des Elektronendonators Glutathion (GSH).

Bisher wurden sechs verschiedene Isoformen beschrieben. Die bedeutendste ist die Isoform 1. Sie ist im Cytosol lokalisiert und wird ubiquitär exprimiert. Neben der Leber und der Niere wurden besonders hohe Aktivitäten dieser Isoform in Erythrozyten nachgewiesen. Außerdem war die Isoform 1 der GPX das erste identifizierte Selenoprotein [127].

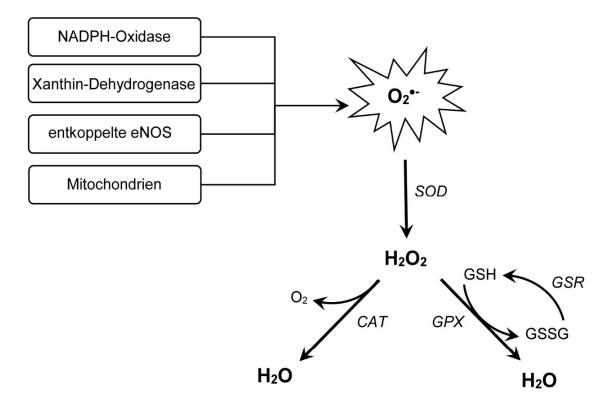


Abbildung 4: Enzymatischer Abbau des Superoxid-Anions. Superoxid-Anionen werden durch Enzyme wie NADPH-Oxidase (NOX) oder Xanthin-Dehydrogenase (XDH) physiologisch produziert. Entkoppelte eNOS kann anstatt des antioxidativ wirksamen NO ebenfalls Superoxid-Anionen bilden. Außerdem entstehen Superoxid-Anionen durch fehlgeleitete Elektronen aus der Energiegewinnung in den Mitochondrien. Die Superoxid-Dismutase (SOD) disproportioniert zwei Superoxid-Anionen zu Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>). Das entstandene Wasserstoffperoxid wird durch die Katalase (CAT) und die Glutathion-Peroxidase (GPX) weiter abgebaut. Während die Katalase zwei Moleküle Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) zu Wasser (H<sub>2</sub>O) und Sauerstoff (O<sub>2</sub>) disproportioniert, reduziert die Glutathion-Peroxidase das Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) zu Wasser (H<sub>2</sub>O) unter dem Verbrauch des Elektronendonators Glutathion (GSH). Das dabei entstandene Glutathion-Disulfid (GSSG) wird durch die Glutathion-Reduktase (GSR) wieder zu Glutathion (GSH) reduziert.

Die antioxidativen Enzyme Superoxid-Dismutase, Katalase und Glutathion-Peroxidase sind in aeroben Organismen weit verbreitet. Es konnte gezeigt werden, dass eine Inaktivierung dieser Enzyme bei Kulturzellen bzw. Versuchstieren zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber



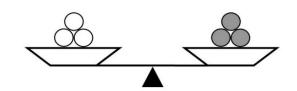
oxidativem Stress führte. Ebenso konnte der gegenteilige Effekt demonstriert werden. Bei einer Überexpression dieser Enzyme waren die Organismen gegenüber oxidativen Stressoren weniger sensibel [128-131].

### 2.10. Oxidativer Stress

Unter normalen physiologischen Bedingungen sind die beiden Seiten des dynamischen Gleichgewichtes zwischen oxidativen und antioxidativen Vorgängen ausbalanciert. Auf der einen Seite stehen die Oxidantien und die Prooxidantien, welche die Bildung von ROS fördern. Demgegenüber stehen mit den Antioxidantien Substanzen, die die ungewollte Oxidation von oxidierbaren Substanzen signifikant verlangsamen oder verhindern können [132]. Kommt es zu einer Verschiebung des Gleichgewichtes zu Gunsten der Oxidantien, wird von "oxidativem Stress" gesprochen. Eine solche Verschiebung kann durch eine vermehrte Produktion von Oxidantien bzw. Prooxidantien ausgelöst werden. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass diese Inbalance durch eine Verminderung der Konzentration oder der Aktivität der Antioxidantien hervorgerufen wird (Abbildung 5) [133].

Antioxidativ		Oxidativ
Enzyme (SOD, CAT, GPX)	ondogon	Enzyme (NOX, XDH)
Niedermolekulare Substanzen (Harnsäure, Liponsäure)	endogen	Mitochondrien
Vitamine, sekundäre Pflanzenstoffe, Spurenelemente, Mineralien	exogen	UV-Strahlung, Luftverschmutzung, Drogen, Alkohol, Rauchen, Medikamente, Industriechemikalien

### Physiologische Balance



# Oxidativer Stress reduzierte Antioxidantien erhöhte Oxidantien Antioxidantien Oxidantien

Abbildung 5: Balance zwischen oxidativen sowie antioxidativen Kräften. Im gesunden Zustand ist das dynamische Gleichgewicht zwischen den Prooxidantien und Oxidantien sowie den Antioxidantien ausbalanciert. Durch verschiedene exogene Einflüsse kann dieses Gleichgewicht kippen. Eine Ursache kann die vermehrte Produktion oder Zufuhr von ROS darstellen. Auf der anderen Seite ist es ebenfalls möglich, dass nicht genügend Antioxidantien gebildet werden oder die ROS-abbauende Enzyme inhibiert werden. In beiden Fällen können die Abwehrmechanismen des Organismus die oxidativen Kräfte nicht mehr neutralisieren und es kommt zum oxidativen Stress.

### 2.11. Sekundäre Pflanzenstoffe

Sekundäre Pflanzenstoffe sind Substanzen, die von Pflanzen produziert werden. Sie dienen der Farbgebung, als Abwehrstoffe gegen Fressfeinde und mikrobiellen Befall sowie als Wachstumsregulatoren. Da sie in allen pflanzlichen Bestandteilen unseres Essens vorkommen, sind sie eine feste Komponente der Ernährung. Trotz des Einflusses sekundärer Pflanzenstoffe auf verschiedene physiologische Prozesse des Körpers zählen sie nicht zu den essentiellen Nährstoffen. Von den etwa 100.000 bisher bekannten sekundären Pflanzenstoffen kommen etwa 5.000 bis 10.000 in der Nahrung vor.

Hinsichtlich ihrer chemischen Struktur und funktionellen Eigenschaften werden sie in verschiedenen Gruppen eingeteilt. Zu den bekanntesten zählen die Polyphenole, Carotinoide sowie Phytosterole. Außerdem gibt es noch Phytoöstrogene, Glucosinolate, Sulfide, Monoterpene, Saponine, Protease-Inhibitoren und Lektine. In keine dieser Gruppen lassen sich die ebenfalls zu den sekundären Pflanzenstoffen zählenden Substanzen Chlorophyll und Phytinsäure zuordnen [134].



Alles, was Sie über Arginin wissen müssen

Unterschiedliche gesundheitsfördernde Effekte werden den sekundären Pflanzenstoffen zugeschrieben (Tabelle 5). Neben dem Schutz vor verschiedenen Krebsarten sollen sie vor allem positive Auswirkungen auf den vaskulären Status haben, in dem sie den Blutdruck senken und die Blutgefäße erweitern. Außerdem werden sie in Verbindung gebracht mit entzündungshemmenden, antibakteriellen sowie neurologischen Wirkungen.

Aufgrund der Durchführung von großen Beobachtungs- und Interventionsstudien hat sich in den letzten Jahren die wissenschaftliche Datenlage bezüglich der Auswirkungen von sekundären Pflanzenstoffen deutlich verbessert. So konnten zwei Metastudien, die insgesamt 22 prospektive Kohortenstudien einschlossen, eindeutig eine Verringerung des KHK-Risikos durch sekundäre Pflanzenstoffe demonstrieren. Diese Erkenntnis wird durch verschiedene Interventionsstudien gestützt, die offenlegen, dass bei KHK involvierte Stoffwechselprozesse positiv beeinflusst werden [135-136].

Den größten Einfluss bezüglicher einer KHK, die eine Manifestation der Atherosklerose darstellt, sowie bei antioxidativen Eigenschaften zeigten neben den Polyphenolen auch die Carotinoide, Sulfide sowie Phytosterole. Bei den Polyphenolen sind vor allem die Flavonoide und Phenolsäuren zu nennen. Daher sind diese Gruppen für eine Untersuchung des Effektes auf das NO-Redox-Gleichgewicht besonders prädestiniert.

Sekundärer Pflanzenstoff		Wirkungen
Flavonoide	im Tier/in vitro:	antioxidativ, antithrombotisch, blutdrucksenkend, entzündungshemmend, immunmodulierend, antibiotisch
	beim Menschen:	kardioprotektiv, antikanzerogen
Phenolsäure	im Tier/in vitro:	antioxidativ
1 Herioisaure	beim Menschen:	antikanzerogen
Carotinoide	im Tier/in vitro:	antioxidativ, immunmodulierend, entzündungshemmend
	beim Menschen:	kardioprotektiv, bei Makula-Degeneration, antikanzerogen (in Diskussion)
Phytoöstrogene	im Tier/in vitro:	antioxidativ, immunmodulierend
	beim Menschen:	kardioprotektiv, blutdrucksenkend, antikanzerogen (in Diskussion) bei klimatischen Beschwerden (in Diskussion)
Glucosinolate	im Tier/in vitro:	antioxidativ, immunmodulierend
Giucosiriolate	beim Menschen:	antikanzerogen
Sulfide	im Tier/in vitro:	antibiotisch, antioxidativ, antithrombotisch, blutdrucksenkend, cholesterinsenkend
	beim Menschen:	antikanzerogen
Manatarnana	im Tier/in vitro:	cholesterinsenkend, antikanzerogen
Monoterpene	beim Menschen:	-
Sanonina	im Tier/in vitro:	antikanzerogen, antifungal
Saponine	beim Menschen:	-
	im Tier/in vitro:	cholesterinsenkend
Phytosterole	beim Menschen:	cholesterinsenkend, kardioprotektiv (in Diskussion)

Tabelle 5: Übersicht der Wirkungen der unterschiedlichen Gruppen der sekundären Pflanzenstoffe [95]. Verweis im Bild ändern: [137]



### 3. Der NO-steigernde und ROS-stabilisierende Wirkstoffkomplex L-Arginin 4.0

Da sich Bewegungsmangel, Ernährung, Corticoide sowie Endo- und Exotoxine direkt auf die Physiologie des Endothels sowie seiner Funktion auswirken, liegt ein großes Potential in der Prophylaxe und Therapie der endothelialen Dysfunktion, die unserer Vermutung nach im Krankheitsbild der Hufrehe zu Grunde liegt.

Den allgemeinen, unter 2.5 beschriebenen Therapieempfehlungen folgend, schlagen wir nach Sichtung der Studienlage als zusätzliche therapeutische Maßnahme die Versorgung mit einer Kombination genau jener Aminosäuren, Pflanzenextrakte, Vitamine und Mineralien vor, welche die Aspekte der NO-Bildung im Endothel anregen und seine Funktion stabilisieren.

Beginnend bei der Expression des Enzyms eNOS, der Verhinderung der Entkopplung der eNOS, der Bereitstellung des Substrats L-Arginin zur NO-Bildung, dem Hemmen der Inhibitoren der eNOS bis hin zur Sicherstellung der enzymatischen Abwehrmechanismen von ROS.

Durch die gezielte Stärkung ist es möglich, dem Organismus eine ausreichende NO-Versorgung sicherzustellen sowie einen Puffer gegenüber den Risikofaktoren zu geben.

### 3.1. Entwicklungen eines Arginin-4.0-Präparates

L-Arginin 4.0 beschreibt den aktuellen Entwicklungsstand NO-bildender, natürlicher Präparate. Noch vor 20 Jahren ging man davon aus, dass die Aminosäure L-Arginin für die Funktionalität von eNOS genügt. Seinerzeit galten L-Arginin-Monopräparate (= L-Arginin 1.0) als optimal. Inzwischen ist die Forschung jedoch drei Schritte weiter. Die folgende Aufzählung skizziert diese Entwicklung:

- L-Arginin 1.0: Nachdem die drei US-amerikanischen Wissenschaftler Robert F.
  Furchgott, Louis J. Ignarro und Ferid Murad 1998 "Für die Erforschung der Wirkungen
  von Stickstoffmonoxid als Signalmolekül im menschlichen Herz-Kreislauf- und
  Gefäßsystem" mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet wurden, kamen die
  ersten L-Arginin-Monoprodukte auf den Markt.
- L-Arginin 2.0: Ende der Nullerjahre folgten in einer zweiten Welle Nahrungsergänzungen, die L-Arginin und dessen natürliche Vorstufe L-Citrullin kombinierten, und damit eine vielfach längere Wirkung ermöglichten.
- L-Arginin 3.0: Die L-Arginin-L-Citrullin-Kombinationen wurden von Präparaten abgelöst, die man um bekannte herz- und gefäßstärkende Vitalstoffe wie Omega-3-Fettsäuren angereichert hatte.
- L-Arginin 4.0: Supplemente, die vollständig und in biologisch abgestimmter Weise die körpereigene Bildung von Stickstoffmonoxid gewährleisten und über L-Arginin und L-Citrullin hinaus spezifische Aminosäuren, Antioxidantien, Co-Enzyme, Mineralien, sekundäre Pflanzenstoffe und Vitamine gemäß dem Bauplan der Natur vereinen, heißen L-Arginin 4.0.



Die Bildung von Stickstoffmonoxid läuft über drei Stufen ab. In einem vierten Schritt ist die biologische Verfügbarkeit von NO sicherzustellen, da der Botenstoff sehr schnell mit ROS reagiert. Dieser Reaktionsschritt kann mit einer ausreichenden Versorgung an Antioxidantien sowie einer hohen Verfügbarkeit von körpereigenen, ROS-Abbauenden Enzymen, bewerkstelligt werden.

### 3.2. Aufbau eines Arginin-4.0-Präparates

### 1. Die eNOS-Expression:

Die Basis für eine ausreichende NO-Produktion setzt die Gegenwart einer ausreichenden Menge des Enzyms eNOS voraus. Die Expression des Enzyms kann zuverlässig durch folgende Pflanzenextrakte und Co-Enzyme gesteigert werden:

- Resveratrol
- OPC
- Rutin
- Quercetin
- Co-Enzym Q10
- Kurkuma
- Mariendistel
- Rosmarin

### 2. Co-Faktoren, die die Funktion der eNOS sicherstellen und eine Entkopplung verhindern:

- Riboflavin (Vitamin B2): Stellt die Funktion der Reduktase-Domain des Enzyms sicher (Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD), Flavinmononukleotid (FNM))
- 5-MTHF-Calcium (Folat) + Vitamin C: Stellen die Regeneration der Oxidasedomain des Enzyms sicher (Tetrahydrobiopterin (BH4))
- Zink: Fungiert als Verbindung der beiden Enzym-Monomeren zu einem Dimer

### 3. Bereitstellung des Substrats zur NO-Produktion:

- L-Arginin-Base: Die Übertragung des Sauerstoffmoleküls auf das L-Arginin generiert NO
- L-Citrullin: Wird zeitverzögert in L-Arginin umgewandelt. Stellt eine dauerhafte Versorgung des Organismus mit L-Arginin sicher, da L-Citrullin zeitverzögert in der Leber zu L-Arginin umgewandelt wird. Dies gleicht das Defizit der nur kurzen Verfügbarkeit von oral zugeführtem L-Arginin (max. 3 Std.) über 12 Std. aus

### 4. Antioxidantien zur Stabilisierung des ROS-Gleichgewichtes:

- Kurkuma
- Mariendistel
- OPC (Traubenkernextrakt)
- Quercetin
- Resveratrol
- Rutin



### 3.3. Mengenverhältnisse und Dosierung

Folgende Mengenverhältnisse wurden für das Arginin-4.0-Präparat gewählt und 2017 von dem naturheilkundlich orientierten Start-up-Unternehmen zestonics GmbH realisiert:

L-Citrullin	56,86 %
L-Arginin (Base)	28,43 %
Trauben-Polyphenole (OPC, Resveratrol,	
Rutin, Quercetin)	4,26 %
Curcuma (Extrakt, 95 %)	3,55 %
Vitamin C, prolongiert	1,78 %
Mariendistel (Extrakt, 80 % Silymarin)	1,78 %
Q10 (aus Bio-Fermentation)	1,78 %
Rosmarinsäuren (2 %)	0,89 %
Piperin	0,36 %
Zinkgluconat	0,27 %
Vitamin B2	0,03 %
5-MTHF-Calcium	0,02 %

Die Dosierung für Pferde leitet sich an der für den Menschen ermittelten optimalen Tagesdosis ab: Täglich 5 g Fertigpulver pro 90 kg Körpergewicht, aufgeteilt in zwei Einzelgaben (optimaler Weise im 12-Stunden-Rhythmus).

### 4. Ausblick

Wir sind der Ansicht, dass die charakteristischen Symptome der Hufrehe auf eine Schädigung des Endothels zurückzuführen sind. Diese drückt sich durch eine verminderte Stickstoff-Produktion aus. Mit Gefäßveränderungen, Blutgerinnung, Bluthochdruck und Schäden der Huflederhautblättchen lassen sich die vorherrschenden Hufrehe-Symptome mit Stickstoff-Mangelzuständen in einen kausalen Zusammenhang bringen.

Die Betrachtung des Second-Messenger-Moleküls führt über das erweiterte Verständnis des Krankheitsgeschehens zu einem neuen Therapiekonzept: Arginin-4.0-Präparate ermöglichen gegenüber der bislang symptomatischen eine ursachenbezogene Behandlung. Sie lässt sich offenbar auf andere Pferdekrankheiten übertragen.

Nach unseren Recherchen sind für Sommerekzem und Mauke ebenfalls Unterversorgungen mit Stickstoff wesentlich. Versuchsweise Fütterungen mit Arginin-4.0-Präparaten bestätigen die Literaturlage: sie führten zu einer raschen Abheilung! Nach ersten Recherchen hat Stickstoff eine anregende Wirkung auf die Myoepithelzellen, was wiederum die apokrinen Schlauchdrüsen zur Abgabe ihres antibakteriellen Sekrets stimuliert. Dessen antibiotische Wirkung und die verstärkte Mikrozirkulation bringen die Infektionen zum Abklingen.





Alles, was Sie über Arginin wissen müssen

Da viele biochemische und NO-abhängige Prozesse noch auf ihre vollständige Entschlüsselung warten, eröffnet die Beschäftigung mit den Endothel- und Stickstofffunktionen neue wissenschaftliche Perspektiven. Als Anregung und Diskussionsbeitrag mögen die hier zusammengetragenen Ergebnisse dienen.



### Literatur

- [1] COLLES, CM. U. L.B. JEFFCOTT (1977): Laminitis in the horse. Vet. Rec. 100, 262-264.
- [2] STASHAK, T.S. (1989): Lahmheiten. in: Adams Lahmheit bei Pferden 4. Auflage (dt. Bearbeitung H. Wissdorf). Schaper-Verlag, Alfeld-Hannover, 486-499.
- [3] SLATER, M.R., D.M. HOOD U. G.K. CARTER (1995): Descriptive epidemiological study of equine laminitis. Equine vet. J. 27, 364-367.
- [4] SCHEUERER, M. U. K. GRIESHABER (1996): Die Hufrehe. Veterinär Spiegel. 1, 8-16.
- [5] HOLLE, A. H, H. HOLLE U. F. WEISCHER (1942): Über Wesen, Ursachen und Behandlung der Hufrehe des Pferdes. Berk Münch, tierärztl. Wochenschr. 5/6. 37-40.
- [6] BAXTER, G.M. (1994): Acute laminitis. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 10, 627-640.
- [7] PELOSO, J.G., N.D. COHEN, M.A. WALKER, J.P. WATKINS, J. M. GAYLE u. W. MOYER (1996): Case-control study of risk factors for the development of laminitis in the contralateral limb in Equidae
- with unilateral lameness. j. Am. Vet. Med. Assoc. 209, 1746-1749. [8] WINTZER, H. -J. (1997): Krankheiten der Gliedmaßen. in: Krankheiten des Pferdes, H.-J. Wintzen: (Hrsg.), 2. Auflage. Parey Buchverlag im Blackwell Wissenschafts-Verlag GmbH, Berlin, Wien.
- [9] BAXTER, G.M. (1992): Equine laminitis. Equine Practice 14, 13-22.
- [10] BÜSTEDT, H. (1993): Geburtsrehe (Pododermatitis acuta toxica puerperalis). in: Richter-Götze Tiergeburtshilfe, 4. Auflage. Verlag Paray Berhn, Hamburg, 445-448.
- [11] BARTMANN, C.P, B. OHNESORG, J. KALING U. E. KLUG (1996): Geburtsrehe wann ist eine Prophylaxe erforderlich? Prakt. Tierarzt Colleg. Vet. 26, 79-82.
- [12] PICK, M. (1970): Erste Erfahrung in der Therapie der chronischen Erkrankungen des Respirationtraktes der Pferde mit Triamcinolon-Acetonid. Tierärztliche Umschau. 25, 195-200.
- [13] BREUER, D. (1973): Indikationen und Nebenwirkung der Corticoidtherapie beim Pferd. Tierärztl. Umschau 28, 15-20.
- [14] KELLER, H. (1981): Vor- und Nachteile moderner Therapeutika bei der Behandlung von Arthropathien des Pferdes. Prakt. Tierarzt Colleg. vet. 63, 61-69.
- [15] GERBER. H. (1994): Pferdekrankheiten. Band 1 Innere Medizin einschließlich Dermatologie. Verlag Ulmer Stuttgart.
- [16] COFFMAN, J.R. (1983): Hufrehe beim Pferd. in: Knezevic, P.F. (Hrsg.): Orthopädie bei Huf- und Klauentiere. Verlag Schlütersche, Hannover, 72-79.
- [17] HOOD, D.M. (1999b): The pathophysiology of developmental and acute laminitis.
- Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 15, 322-343.
- [18] COFFMAN, J.R, J.H. JOHNSON, M.M. GUFFY u. E J . FINICCHIO (1970b): Hoof circulation in equine laminitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 156, 76-83.
- [19] ACKERMANN, N., H.E. GARNER, J.R. COFFMAN U. J.W.CLEMENT (1975): Angiographie appearance of the notmal equine foot and alterations in chronic laminitis.
- J. Am. Vet. Med. Assoc. 166, 58-62.
- [20] HOOD, D.M., M.S. AMOSS, D. HIGHTOWER, D.R. MCDONALD, J.P. MCGRATH, W.C. MCMULLAN u. W.L. SCRUTCHFIELD (1978): Equine Laminitis I: Radioisotopic analysis of the hemodynamics of the foot during the acute disease. The Journal of Equine Medicine and Surgery. 2, 439-444.
- [21] MARKS, G. U. K.-D. BUDRAS (1987): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die akute Hufrehe des Pferdes. Berl. Münch, tierärzd. Wochenschr. 100, 82-88.
- [22] MOORE, J. N, D. ALLEN U. E.S. CLARK (1989): Pathophysiology of acute laminitis. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 5, 67-71.
- [23] HERTSCH, B. U. V. MADEICZYK (1993): Vergleichende mikroangiographische Untersuchungen bei der akuten und chronischen Hufrehe des Pferdes. Pferdeheilkunde. 9, 283-296.
- [24] ALLEN, D., E.S. CKVRK, J. N. MOORE U. K. W. PRASSE (1990): Evaluation of equine digital Starling forces and hemodynamics during early laminitis. Am. J. vet. Res. 51,1930-1934.



- [25] BAXTER, G.M, R.E. LASKEY, R.L. TACKETT, J. N. MOORE U. D. ALLEN (1989): In vitro reactivity of digital arteries and veins to vasoconstrictive mediators in healthy horses and in horses with early laminitis. Am. J. vet. Res. 50, 508-517.
- [26] POLLITT, CG (1995): Color atlas of die horse's foot. Verlag Morby-Wolfe, London.
- [27] BUDRAS, K.-D. U. B. HUSKAMP (1999): Belastungsrehe Vergleichende Betrachtung zu anderen systemischen Hufreheerkrankungen. Pferdeheilkunde 15, 89-110.
- [28] DIETZ O. U. K.-D. BUDRAS (2000): Zur Problematik der Hufrehe mit einem Vergleich zwischen Flach-, Voll- und Rehehuf. Der praktische Tierarzt. 81 714-720.
- [29] ROBINSON, N. E. (1990): Digital blood flow, arteriovenous ansastomoses and laminitis. Equine vet. J. 22, 381-383.
- [30] POLLITT, C.C. U. G.S. MOLYNEUX (1990): A scanning electron microscopical study of the dermal microcirculation of the equine foot. Equine vet. J. 22, 79-87.
- [31] MOLYNEUX, G.S, C.J. HALLER, K. MOGG U. C.C. POLLITT (1994): The structxure, Innervation and location of arteriovenous anastomoses in the equine foot. Equine vet. J. 26, 305-312.
- [32] BECKER, M. U. P. WILD (1981): Mikrozirkulation und Hufrehe. Tierarzd. Prax. 9, 495-502.
- [33] GARNER, H. E, J.R. COFFMAN, A.W. HAHN, N. ACKERMANN U. J.H. JOHNSON (1975a):
- Equine laminitis and associated hypertension: A review.]. Am. Vet. Med. Assoc, 166, 56-57.
- [34] ROBINSON, N. E., J. B. SCOTT,]. M. DABNEYU. G. A. JONES (1976): Digital vascular response an permeability in equine alimentary laminitis. Am. J. Vet. Res. 37, 1171-1176.
- [35] GARNER, H.E.; A.W. HAHN, C. SALEM, J.R. COFFMAN, D.P. HUTCHESON U. J. H. JOHNSON (1977): Cardiac Output, left ventricular ejection rate, plasma volume, and heart rate changes in equine laminitis-hypertension. Am. J. Vet. Res. 38, 725-729.
- [36] HARKEMA, J.R, N.E. ROBINSON U. J.B. SCOTT (1978): Cardiovascular, acid-base, electrolyte, and plastna volume changes in ponies developing alimentary laminitis. Am. J. Vet. Res. 39, 741-744.
- [37] ELLIOT, J. (1996): Editorial leaders: Nitric oxide and equine laminitis: topical speculation or scientific fact? Equine vet. J. 28, 1-2.
- [38] ELLIOT. J., C.E. BRYANTU. J. SOYDAN (1994): The role of nitric oxid in the responses of equine digital veins to vasodilator and vasoconstictor agents. Equine vet. J. 26, 378-384.
- [39] POLLITT, C.C (1996): Basement membrane pathology: a feature of acute equine laminitis. Equine yet, J. 28: 38-46.
- [40] JOHNSON, P.J.; S.C. TYAGI, L.C. KATWA, V.K. GANJAM, L.A. MOORE, J.M. KREEGER U. N.T. MESSER (1998): Activation of extracellular matrix metalloproteinases in equine laminitis.

Vet. Ree. 142, 392-396.

- [41] BOLZ, W. (1939): Behandlung der chronischen Hufrehe. Tierärztl. Rdsch. 45, 651-656.
- [42] BUDRAS, K.-D. (1999): Hufbeinträger. in: 6. Kongress für die Pferdemedizin und -Chirurgie, Genf 1999, Kongr.ber, 8-15.
- [43] FISCHER,- (1941): Die günstige Beeinflussung der akuten Rehe-Erkrankungen durch einen leicht durchführbaren Hufbeschlag. Z. Veterinärk. 53, 45-56.
- [44] GOLTZ, T.K. (1987): Anatomie, hoof, and shoeing considerations for the treatmaent of laminitis in Horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 190, 1323-1332.
- [45] BUDRAS, K.-D. U. B. HUSKAMP (1993): Die Hornqualität des Pferdehufes und deren
- Verbesserung nach einer orthopädischen Behandlung der Hufrehe. in: Knezevic, P.F. (Hrsg.):
- Orthopädie bei Huf -und Klauentieren Verlag Schattauer Stuttgart, New York, 252-267.
- [46] COLLES, CM. (1991): Laminitis research. Equine vet. Journal. 23, 237-238.
- [47] CHAPMAN, B. U. G.W. PLATT (1984): Laminitis. Proc. Am. Assoc. Equine Pract. 30, 99-109.
- [48] BAXTER, G.M. (1986): Equine laminitis caused by distal displacement of the distal phalanx: 12 cases (1976-1985). J. Am. Vet. Med. Assoc. 189, 326-329.
- [49] GOLTZ. I. E. (1989): The treatment of laminitis in horse. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 5, 73-108.
- [50] Deanfield, J.E., J.P. Halcox, and T.J. Rabelink, Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. Circulation, 2007. 115(10): p. 1285-95.



- [51] Lerman, A. and A.M. Zeiher, Endothelial function: cardiac events. Circulation, 2005. 111(3): p. 363-8.
- [52] Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature, 1980. 288(5789): p. 373-6.
- [53] Palmer, R.M., A.G. Ferrige, and S. Moncada, Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature, 1987. 327(6122): p. 524-6.
- [54] Ignarro, L.J., et al., Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. 84(24): p. 9265-9.
- [55] Murad, F., et al., Properties and regulation of guanylate cyclase and some proposed functions for cyclic GMP. Adv Cyclic Nucleotide Res, 1979. 11: p. 175-204.
- [56] Furchgott, R.F., Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. Circ Res, 1983. 53(5): p. 557-73.
- [57] Wolf, A., et al., Dietary L-Arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterolemic humans. J Am Coll Cardiol, 1997. 29(3): p. 479-85.
- [58] Kubes, P., M. Suzuki, and D.N. Granger, Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. 88(11): p. 4651-5.
- [59] Garg, U.C. and A. Hassid, Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. J Clin Invest, 1989. 83(5): p. 1774-7.
- [60] Hogg, N., et al., Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis. FEBS Lett, 1993. 334(2): p. 170-4.
- [61] Böger, R.H., et al., Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-Arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. Atherosclerosis, 1995. 117(2): p. 273-84.
- [62] Böger, R.H., The emerging role of asymmetric dimethylL-Arginine as a novel cardiovascular risk factor. Cardiovasc Res, 2003. 59(4): p. 824-33.
- [63] Palmer, R.M., et al., L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. Biochem Biophys Res Commun, 1988. 153(3): p. 1251-6.
- [64] Moncada, S., R.M. Palmer, and E.A. Higgs, Biosynthesis of nitric oxide from L-Arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. Biochem Pharmacol, 1989. 38(11): p. 1709-15.
- [65] Stuehr, D.J., Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1997. 37: p. 339-59.
- [66] Förstermann, U., et al., Isoforms of nitric oxide synthase. Properties, cellular distribution and expressional control. Biochem Pharmacol, 1995. 50(9): p. 1321-32.
- [67] Hibbs, J.B., Jr., et al., Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. Biochem Biophys Res Commun, 1988. 157(1): p. 87-94.
- [68] Andrew, P.J. and B. Mayer, Enzymatic function of nitric oxide synthases. Cardiovasc Res, 1999. 43(3): p. 521-31.
- [69] Moncada, S. and E.A. Higgs, The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. Br J Pharmacol, 2006. 147 Suppl 1: p. S193-201.
- [70] Vallance, P., et al., Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. Lancet, 1992. 339(8793): p. 572-5.
- [71] Rees, D.D., et al., Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. Br J Pharmacol, 1990. 101(3): p. 746-52.
- [72] Closs, E.I., et al., Plasma membrane transporters for L-Arginine. J Nutr, 2004. 134(10 Suppl): p. 2752S-2759S; discussion 2765S-2767S.
- [73] Closs, E.I., et al., Interference of L-Arginine analogues with L-Arginine transport mediated by the y+ carrier hCAT-2B. Nitric Oxide, 1997. 1(1): p. 65-73.
- [74] Böger, R.H., et al., Plasma asymmetric dimethylL-Arginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. Circulation, 2009. 119(12): p. 1592-600.

- [75] McDermott, J.R., Studies on the catabolism of Ng-methyl-L-Arginine, Ng, Ng-dimethyl-L-Arginine and Ng, Ng-dimethylL-Arginine in the rabbit. Biochem J, 1976. 154(1): p. 179-84.
- [76] Tsikas, D., et al., Assessment of nitric oxide synthase activity in vitro and in vivo by gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 2000. 742(1): p. 143-53.
- [77] Leiper, J.M., et al., Identification of two human dimethyl-L-Arginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial L-Arginine deiminases. Biochem J, 1999. 343 Pt 1: p. 209-14.
- [78] Tran, C.T., J.M. Leiper, and P. Vallance, The DDAH/ADMA/NOS pathway. Atheroscler Suppl, 2003. 4(4): p. 33-40.
- [79] Tran, C.T., et al., Chromosomal localization, gene structure, and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. Genomics, 2000. 68(1): p. 101-5.
- [80] Ross, R., Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med, 1999. 340(2): p. 115-26.
- [81] Böger, R.H., et al., Dietary L-Arginine and alpha-tocopherol reduce vascular oxidative stress and preserve endothelial function in hypercholesterolemic rabbits via different mechanisms. Atherosclerosis, 1998. 141(1): p. 31-43.
- [82] Herlitz, H., et al., The L-Arginine-nitric oxide pathway in thrombotic microangiopathy. Scand J Urol Nephrol, 1997. 31(5): p. 477-9.
- [83] Usui, M., et al., Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. Life Sci, 1998. 62(26): p. 2425-30.
- [84] Duckelmann, C., et al., Asymmetric dimethylL-Arginine enhances cardiovascular risk prediction in patients with chronic heart failure. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007. 27(9): p. 2037-42.
- [85] Surdacki, A., et al., Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylL-Arginine in men with essential hypertension. J Cardiovasc Pharmacol, 1999. 33(4): p. 652-8.
- [86] Goonasekera, C.D., et al., Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. J Hypertens, 1997. 15(8): p. 901-9.
- [87] Wolf, C., et al., Urinary asymmetric dimethylL-Arginine (ADMA) is a predictor of mortality risk in patients with coronary artery disease. Int J Cardiol, 2012. 156(3): p. 289-94.
- [88] Kiechl, S., et al., Asymmetric and symmetric dimethylL-Arginines are of similar predictive value for cardiovascular risk in the general population. Atherosclerosis, 2009. 205(1): p. 261-5.
- [89] Abbasi, F., et al., Plasma concentrations of asymmetric dimethylL-Arginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. Am J Cardiol, 2001. 88(10): p. 1201-3.
- [90] Schulz, E., et al., Nitric oxide, tetrahydrobiopterin, oxidative stress, and endothelial dysfunction in hypertension. Antioxid Redox Signal, 2008. 10(6): p. 1115-26.
- [91] Vasquez-Vivar, J., et al., Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. 95(16): p. 9220-5.
- [92] Cooke, J.P., Does ADMA cause endothelial dysfunction? Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000. 20(9): p. 2032-7.
- [93] Tanaka, M., et al., Effect of vasoconstrictor coupling factor 6 on gene expression profile in human vascular endothelial cells: enhanced release of asymmetric dimethylL-Arginine. J Hypertens, 2006. 24(3): p. 489-97.
- [94] Gomberg, M., AN INSTANCE OF TRIVALENT CARBON: TRIPHENYLMETHYL. Journal of the American chemical Society, 1900. 22(11): p. 757-771.
- [95] Commoner, B., J. Townsend, and G.E. Pake, Free radicals in biological materials. Nature, 1954. 174(4432): p. 689-91.
- [96] Gerschman, R., et al., Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. Science, 1954. 119(3097): p. 623-6.
- [97] Harman, D., Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol, 1956. 11(3): p. 298-300.
- [98] McCord, J.M. and I. Fridovich, Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). J Biol Chem, 1969. 244(22): p. 6049-55.



- [99] Babior, B.M., R.S. Kipnes, and J.T. Curnutte, Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. J Clin Invest, 1973. 52(3): p. 741-4.
- [100] Babior, B.M., J.T. Curnutte, and R.S. Kipnes, Biological defense mechanisms. Evidence for the participation of superoxide in bacterial killing by xanthine oxidase. J Lab Clin Med, 1975. 85(2): p. 235-44.
- [101] Spagnoli, A., et al., Effect of insulin on hydrogen peroxide production by human polymorphonuclear leukocytes. Studies with monoclonal anti-insulin receptor antibodies, and an agonist and an inhibitor of protein kinase C. Horm Res, 1995. 43(6): p. 286-93.
- [102] Shaikhali, J., et al., The redox-sensitive transcription factor Rap2.4a controls nuclear expression of 2-Cys peroxiredoxin A and other chloroplast antioxidant enzymes. BMC Plant Biol, 2008. 8: p. 48.
- [103] Amstad, P.A., G. Krupitza, and P.A. Cerutti, Mechanism of c-fos induction by active oxygen. Cancer Res, 1992. 52(14): p. 3952-60.
- [104] Babior, B.M., Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (first of two parts). N Engl J Med, 1978. 298(12): p. 659-68.
- [105] Murrell, G.A., M.J. Francis, and L. Bromley, Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. Biochem J, 1990. 265(3): p. 659-65.
- [106] Chojkier, M., et al., Stimulation of collagen gene expression by ascorbic acid in cultured human fibroblasts. A role for lipid peroxidation? J Biol Chem, 1989. 264(28): p. 16957-62.
- [107] Verma, S., et al., Activation of iodine into a free-radical intermediate by superoxide: a physiologically significant step in the iodination of tyrosine. Biochem Biophys Res Commun, 1990. 170(3): p. 1026-34.
- [108] Skulachev, V.P., Mitochondria-targeted antioxidants as promising drugs for treatment of agerelated brain diseases. J Alzheimers Dis, 2012. 28(2): p. 283-9.
- [109] Sinclair, A.J., A.H. Barnett, and J. Lunec, Free radicals and antioxidant systems in health and disease. Br J Hosp Med, 1990. 43(5): p. 334-44.
- [110] Ohshima, H., et al., Damage induced by hydroxyl radicals generated in the hydration layer of gamma-irradiated frozen aqueous solution of DNA. J Radiat Res, 1996. 37(3): p. 199-207.
- [111] Lesko, S.A., R.J. Lorentzen, and P.O. Ts'o, Role of superoxide in deoxyribonucleic acid strand scission. Biochemistry, 1980. 19(13): p. 3023-8.
- [112] Steinberg, D., et al., Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. N Engl J Med, 1989. 320(14): p. 915-24.
- [113] Steinberg, D., Antioxidants in the prevention of human atherosclerosis. Summary of the proceedings of a National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop: September 5-6, 1991, Bethesda, Maryland. Circulation, 1992. 85(6): p. 2337-44.
- [114] McCord, J.M., Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med, 1985. 312(3): p. 159-63.
- [115] Manning, A.S., Reperfusion-induced arrhythmias: do free radicals play a critical role? Free Radic Biol Med, 1988. 4(5): p. 305-16.
- [116] Oberley, L.W., Free radicals and diabetes. Free Radic Biol Med, 1988. 5(2): p. 113-24.
- [117] Breimer, L.H., Molecular mechanisms of oxygen radical carcinogenesis and mutagenesis: the role of DNA base damage. Mol Carcinog, 1990. 3(4): p. 188-97.
- [118] Feig, D.I., T.M. Reid, and L.A. Loeb, Reactive oxygen species in tumorigenesis. Cancer Res, 1994. 54(7 Suppl): p. 1890s-1894s.
- [119] Repine, J.E., Scientific perspectives on adult respiratory distress syndrome. Lancet, 1992. 339(8791): p. 466-9.
- [120] Kay, A.B., Asthma and inflammation. J Allergy Clin Immunol, 1991. 87(5): p. 893-910.
- [121] Blake, D.R., et al., Hypoxic-reperfusion injury in the inflamed human joint. Lancet, 1989. 1(8633): p. 289-93.
- [122] Adams, J.D., Jr. and I.N. Odunze, Oxygen free radicals and Parkinson's disease. Free Radic Biol Med, 1991. 10(2): p. 161-9.



- [123] Toshniwal, P.K. and E.J. Zarling, Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis. Neurochem Res, 1992. 17(2): p. 205-7.
- [124] Slater, T.F., Free-radical mechanisms in tissue injury. Biochem J, 1984. 222(1): p. 1-15.
- [125] Sohal, R. and R. Allen, Relationship between oxygen metabolism, aging and development. Advances in Free Radical Biology & Medicine, 1986. 2(1): p. 117-160.
- [126] Deisseroth, A. and A.L. Dounce, Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. Physiol Rev, 1970. 50(3): p. 319-75.
- [127] Flohe, L., W.A. Gunzler, and H.H. Schock, Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. FEBS Lett, 1973. 32(1): p. 132-4.
- [128] Kondo, T., et al., Reduction of CuZn-superoxide dismutase activity exacerbates neuronal cell injury and edema formation after transient focal cerebral ischemia. J Neurosci, 1997. 17(11): p. 4180-9.
- [129] de Haan, J.B., et al., Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. J Biol Chem, 1998. 273(35): p. 22528-36.
- [130] Mena, M.A., et al., Effects of wild-type and mutated copper/zinc superoxide dismutase on neuronal survival and L-DOPA-induced toxicity in postnatal midbrain culture. J Neurochem, 1997. 69(1): p. 21-33.
- [131] White, C.W., et al., Transgenic mice with expression of elevated levels of copper-zinc superoxide dismutase in the lungs are resistant to pulmonary oxygen toxicity. J Clin Invest, 1991. 87(6): p. 2162-8.
- [132] Halliwell, B., How to characterize a biological antioxidant. Free radical research communications, 1990. 9(1): p. 1-32.
- [133] Sies, H., Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Exp Physiol, 1997. 82(2): p. 291-5.
- [134] Watzl, B. and C. Leitzmann, Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. 2005: Georg Thieme Verlag.
- [135] Dauchet, L., et al., Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. J Nutr, 2006. 136(10): p. 2588-93.
- [136] He, F.J., et al., Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. J Hum Hypertens, 2007. 21(9): p. 717-28.
- [137] Stehle, P., Deutsche Gesellschaft für Ernährung. 12. Ernährungsbericht 2012. European Journal of Nutrition an Food Safety, 2012. 4: p. 2347-2564.
- [138] Boger, R.H., et al., Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. Circulation, 1998. **98**(18): p. 1842-7.
- [139] Stuehr D, Pou S & Rosen GM (2001) Oxygen reduction by nitric-oxide synthases. J Biol Chem 276:14533-6.
- [140] Li H, Witte K, August M, Brausch I, Gödtel-Armbrust U, Habermeier A, Closs
- EI, Oelze M, Münzel T and Förstermann U (2006) Reversal of endothelial nitric
- oxide synthase uncoupling and up-regulation of endothelial nitric oxide
- synthase expression lowers blood pressure in hypertensive rats. J Am Coll Cardiol 47:2536-2544.
- [141] Wallerath T, Witte K, Schäfer SC, Schwarz PM, Prellwitz W, Wohlfart P, Kleinert H,
- Lehr HA, Lemmer B & Förstermann U (1999) Down-regulation of the expression of endothelial NO synthase is likely to contribute to glucocorticoid-mediated hypertension. Proc Natl Acad Sci U S A 96:13357-62.
- [142] Wallerath T, Godecke A, Molojavyi A, Li H, Schrader J & Förstermann U (2004)
- Dexamethasone lacks effect on blood pressure in mice with a disrupted endothelial NO synthase gene. Nitric Oxide 10:36-41.
- [143] Mortensen A, Lykkesfeldt J
- Does vitamin C enhance nitric oxide bioavailability in a tetrahydrobiopterin-dependent manner? In vitro, in vivo and clinical studies.
- Nitric Oxide. 2014 Jan 30;36:51-7. doi: 10.1016/j.niox.2013.12.001.
- [144] Baker TA, Milstien S, Katusic ZS





Alles, was Sie über Arginin wissen müssen

 $\label{thm:continuous} \mbox{ Effect of vitamin C on the availability of tetrahydrobiopterin in human endothelial cells. }$ 

J Cardiovasc Pharmacol. 2001 Mar; 37(3):333-8.

[145] Rezk BM, Haenen GR, van der Vijgh WJ, Bast A

Tetrahydrofolate and 5-methyltetrahydrofolate are folates with high antioxidant activity.

Identification of the antioxidant pharmacophore.

FEBS Lett. 2003 Dec 18;555(3):601-5.

## ZEST VITALITY

### Gefäßnährstoffe für Mensch & Tier

ZEST'VITALITY von ZESTONICS: Alle Gefäßnährstoffe von Arginin 4.0 in einer Dose

1 Dose **ZEST**'VITALITY enthält 345 g pulverisierte Gefäßnährstoffe in einer ausgewogenen und hochbioverfügbaren Mischung. Pferde haben einen täglichen Bedarf von 5 g pro 90 kg Körpergewicht.

Es empfiehlt sich die Einnahme im 12-Stunden-Rhythmus (morgens/abends). **ZEST** VITALITY kann dem Futter (bspw. aufgeweichte Heucops) beigemischt werden.

### **ARGININ** 4.0

### Zutaten pro 5 g:

- ★ 2837,36 mg L-Citrullin
- ★ 1418,68 mg L-Arginin (Base)
- ★ 212,8 mg Trauben-Polyphenole (OPC, Resveratrol, Rutin, Quercetin)
- ★ 177,34 mg Curcuma (Extrakt, 95 %)
- \*\* 88,67 mg Vitamin C, prolongiert
- \* 88,67 mg Mariendistel (Extrakt, 80 % Silymarin)
- \* 88,67 mg Q10 (aus Bio-Fermentation)
- 🜟 44,33 mg Rosmarinsäuren (2 %)
- ★ 17,73 mg Piperin
- ★ 13,3 mg Zinkgluconat
- 9,15 mg Vitamin D3 (1000 I.E.)
- ★ 1,33 mg Vitamin B2
- ★ 1,11 mg Vitamin K2 MK-7 (0,2 %)
- ★ 0,89 mg 5-MTHF-Calcium
- ★ Hilfsstoffe: Sonnenblumenöl





### **ZEST'**VITALITY **VON ZESTONICS**



### Natürliche Nährstoffe

ZESTONICS orientiert sich am Vorbild der Natur. Wir verwenden nur vegane und gentechnikfreie Nährstoffe wie Aminosäuren, Mineralstoffe, Pflanzenextrakte und Vitamine. Hier bestellen: www.zestvitality.de

zestonics GmbH - Feuergräfenstr. 10 - 23879 Mölln