



CURTIS HEALTHCARE

60-544 Poznań, ul. Żeromskiego 9
tel. (61) 847-51-47, fax (61) 847-69-67
e-mail: marketing@curtish.com.pl
internet: www.curtish.com.pl

Prof. dr hab. Elżbieta Kostka-Trąbka

Arginina – znany aminokwas o nowych możliwościach zastosowań klinicznych

(reprint z „Ordynatora Leków” 3/2002)

Doc. dr hab. Paweł Chęciński

Badania nad skutecznością suplementacji L-argininy u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych

Doc. dr hab. Anna Jabłeczka

Suplementacja L-argininy w chorobach układu sercowo-naczyniowego

 **Ordynator Leków**

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 22,
tel./faks (+22) 848 57 54

Suplementacja L-argininy w nadciśnieniu tętniczym — fakty i kontrowersje

L-Arginine Supplementation in Arterial Hypertension — Facts and Controversies

Summary

Since the discovery of L-Arginine (L-Arg) as a natural metabolic supplier of nitric oxide (NO) this amino acid has attracted a lot of attention from scientific community. In many researches when L-Arg was given orally or intravenously dilation of peripheral blood vessels, endothelial function improvement and greater NO production were observed. It was concluded that vasodilatative L-Arg action was due to increased accessibility of intracellular substrate for NO synthesis. Soon it occurred that L-Arg intracellular concentration far exceeded the K_m (substrate concentration at which the reaction velocity is half maximal) of the NO synthase. Many experimental and clinical studies were conducted to find out beneficial influence of L-Arg on cardiovascular system. Particular attention was paid to role of dysfunction L-Arg-NO pathway in hypertension. There are more and more proves that L-Arg supplementation is advantageous to patients with hypertension.

key words: L-Arginin, NO, insulin, L-Glutamin, hypertension

Arterial Hypertension 2001, vol. 5, no 2, pages 133–139.

Fakt, że „w zdrowych naczyniach krwionośnych krew pozostaje płynna, natomiast krzepnie w chorych” (Ernest Bruke) [1] był znany już w latach 50. XIX wieku. Wyniki badań ostatnich 20 lat ujawniły, iż dzieje się tak dzięki obecności śródbłonna naczyniowego. Od tego czasu śródbłonek stał się przedmiotem licznych badań.

W 1980 roku Furchgott i Zawadzki zademonstrowali, że relaksacja mięśni gładkich naczyń w odpowiedzi na acetylocholinę jest zależna od anatomicznej integralności śródbłonna [2]. Wkrótce udowodniono, że relaksacja ta jest zależna od labilnego czynnika obecnego w śródbłonku naczyniowym nazywanego EDRF (*endothelial-derived relaxing factor*). Skojarzenie podobieństwa efektów farmakologicznych i biochemicznych wywołanych pod wpływem EDRF i NO spowodowało, że w drugiej połowie lat 80. w *Welcom Laboratorium* grupa naukowców pod kierownictwem dr. S. Moncady’ego odkryła, że czynnikiem odpowiedzialnym za obniżenie napięcia ściany naczyń krwionośnych (EDRF) [3] jest tlenek azotu (NO) produkowany przez śródbłonek naczyniowy.

Od tego czasu NO rozpoznawano jako główny międzykomórkowy, a ostatnio również wewnątrzkomórkowy, mediator wywierający swe biologiczne efekty głównie przez aktywację cyklicznej guanylowej i aktywacji cyklicznego GMP [5, 6]. Wykazano, że NO ma potencjalne właściwości biologiczne jako substancja wazoaktywna, regulator czynności płytek krwi, neurotransmitter i czynnik cytotoksyczny [4], a zaburzenia syntezy NO mogą mieć znaczenie w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych, takich jak: nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa, nadciśnienie płucne [5–8], hipercholesterolemia [9] czy miażdżycy [10, 11].

We wczesnych pracach w latach 80. próbowano wykazać, że podstawowym źródłem NO w śródbłonku naczyniowym są azotany, azotyny, jon amoniowy lub nawet hydroksylamina. Kluczowe znaczenie miały wówczas badania Palmera i wsp. [12], w których wykazano, iż hodowane komórki śródbłonna przekształcają ¹⁵N-L-Argininę do ¹⁵NO. Stało się jasne, że NO powstaje w wyniku przemian biochemicznych podobnych do tych, jakie dokonują się

Adres do korespondencji: lek. med. Paweł Bogdański
Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Zaburzeń Metabolicznych
Akademia Medyczna w Poznaniu
ul. Szamarzewskiego 84, 60–569 Poznań
tel./faks: (061) 843–64–67, e-mail: pbogd@polbox.com



Copyright © 2001 Via Medica, ISSN 1428–5851

Znaczenie argininy w patologii przewlekłych powikłań cukrzycy

The role of arginine in the pathomechanism of late diabetic complications



Dorota Zozulińska

Dr hab. med., mieszka w Luboniu koło Poznania. W 1991 roku ukończyła z wyróżnieniem Wydział Lekarski Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W latach 1991–1993 słuchaczka studiów doktoranckich w Klinice Intensywnej Terapii Internistycznej w Poznaniu. W 1994 roku zdała egzamin specjalizacyjny I stopnia z zakresu chorób wewnętrznych, w 1997 roku — egzamin II stopnia. W 1999 roku uzyskała tytuł specjalisty w zakresie diabetologii, w 1994 roku — stopień naukowy doktora nauk medycznych, a w 2002 roku — tytuł doktora habilitowanego nauk medycznych. Od 1993 roku pracuje na Oddziale Chorób Wewnętrznych i Diabetologii Szpitala im. Franciszka Raszei w Poznaniu, a od 2003 roku w Klinice Chorób Wewnętrznych i Diabetologii AM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. W 1992 roku odbywała staż naukowy w Instytucie Farmacji *Frei Universität* w Berlinie, w 2000 roku uzyskała stypendium naukowe *University of Udine* we Włoszech, a w 2002 roku Nagrodę im. J. Ławeckiego przyznaną przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego i firmę Servier w postaci półrocznego stypendium ufundowanego przez *Diabetes Trilas Unit* na Uniwersytecie w Oksfordzie. Jest aktywnym członkiem Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (od 2000 r. jest członkiem Zarządu Oddziału Wielkopolskiego PTD), Towarzystwa Internistów Polskich, *European Association for the Study of Diabetes*, Polskiego Towarzystwa Otyłości i Przemiany Materii, *Risk Factor Study Group* przy DTU oraz grupy *Diabetes International Research & Education Co-operative Team*. Jest autorką 37 prac oryginalnych (w tym 13 zagranicznych), 17 prac poglądowych oraz 102 opublikowanych streszczeń zjazdowych i 9 innych materiałów dydaktycznych. Aktualnie współpracuje z Pracownią Immunologii Komórki oraz Laboratorium Kliniki Intensywnej Terapii Kardiologicznej. Prowadzi badania dotyczące procesu zapalnego, stresu oksydacyjnego oraz dysfunkcji śródbłonna u chorych na cukrzycę typu 1 i typu 2.



Anna Majchrzak

Doktor medycyny, mieszka w Poznaniu. W 1993 roku ukończyła Wydział Lekarski Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W latach 1994–1998 słuchaczka studiów doktoranckich pod kierunkiem prof. dr hab. med. Bogny Wierusz-Wysockiej w Akademii Medycznej w Poznaniu. W 1997 roku zdała egzamin specjalizacyjny I stopnia z zakresu chorób wewnętrznych, w 2000 roku — egzamin II stopnia. W 2004 roku uzyskała tytuł specjalisty w zakresie diabetologii. W 1998 roku obroniła pracę doktorską. Pracuje na Oddziale Chorób Wewnętrznych i Diabetologii Kliniki Chorób Wewnętrznych i Diabetologii Szpitala im. Franciszka Raszei w Poznaniu. Jest aktywnym członkiem Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego, Towarzystwa Internistów Polskich, *European Association for the Study of Diabetes*, Generalnego Komitetu *Diabetes Education Study Group* przy EASD. Jej zainteresowania naukowe obejmują: patomechanizm przewlekłych powikłań cukrzycy, edukację terapeutyczną, psychologiczne aspekty cukrzycy i jej leczenia.

Abstract

Endothelial dysfunction plays an important role in the development of late diabetic complications. An impaired endothelium-dependent vessel relaxations is an early marker of diabetic endotheliopathy. The disturbance in nitric oxide synthesis, resulting from reduced L-arginine availability, is

a principal factor in this phenomenon. Some experimental and clinical data have shown that L-arginine supplementation may be a valuable strategy in prevention and treatment of late diabetic complications.

key words: diabetes mellitus, endothelium, arginine

Adres do korespondencji: dr hab. med. Dorota Zozulińska
Klinika Chorób Wewnętrznych i Diabetologii,
Szpital im. Fr. Raszei w Poznaniu
ul. Mickiewicza 2, 60–834 Poznań
tel./faks +48 (61) 847 45 79; e-mail: zozula@box43.pl



Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna 2004, 4, 5, 331–336
Copyright © 2004 Via Medica, ISSN 1643–3165

Wstęp

L-arginina, czyli kwas 2-amino-5-guanidynowalerianowy, stanowi istotne ogniwo cyklu mocznikowego, w którym usuwany jest toksyczny dla ustroju amoniak. Dzięki roli, jaką odgrywa arginina w tym szlaku przemian metabolicznych, od lat stosuje się ją jako lek he-

patoprotekcyjny i antyasteniczny w takich stanach chorobowych, jak: zaburzenia czynności wątroby, zatrucie amoniakiem, w niedożywieniu i astenii. Wykorzystywana jest także przez sportowców w celu zwiększenia odporności mięśni szkieletowych na zmęczenie w czasie długotrwałego wysiłku [1]. W latach 80. zaobserwowano, że arginina jest substratem niezbędnym do syntezy tlenu azotu (NO) i odgrywa istotną rolę w fizjologii śródbłonna naczyniowego.

Śródbłonek naczyniowy

Śródbłonek naczyniowy pełni w organizmie funkcję mechaniczną, selektywnej bariery oddzielającej strumień krwi od ściany naczyniowej. Jest nie tylko barierą pomiędzy światłem a ścianą naczynia, ale także ważnym narządem endokryjno-parakrynnym zapewniającym homeostazę ustroju. Jest on źródłem wielu aktywnych biologicznie substancji, które regulują metabolizm komórek śródbłonna, wpływają na proliferację mięśni gładkich ściany naczyniowej oraz adhezję leukocytów (granulocytów, monocytów) i płytek krwi. Ponadto śródbłonek reguluje przepuszczalność naczyń i odpowiedź zapalną. Posiada również własności przeciwzakrzepowe i fibrynolityczne. Metaboliczne własności śródbłonna warunkują oksydację osoczowych lipidów i produkcję angiotensyny II, a także prowadzą do degradacji krążących katecholamin i kinin [2].

Jednym z najistotniejszych zadań śródbłonna jest utrzymywanie prawidłowego napięcia ściany naczyniowej. Odbywa się to poprzez syntezę i uwalnianie zarówno czynników naczyniorozkurczowych, jak i naczynioskurczowych [3]. Zasadniczym bodźcem powodującym uwalnianie czynników rozkurczających naczynia, takich jak NO, prostacyklina (PGI₂) oraz śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący (EDHF, *endothelium-derived hyperpolarizing factor*), jest tarcie przepływającej krwi (*shear stress*) o powierzchnię śródbłonna [4].

Tlenek azotu powstaje w komórkach śródbłonna na drodze przemiany L-argininy w L-cytrulinę. Reakcja katalizowana jest przez konstytutywną postać syntazy tlenu azotu (eNOS-3). Kofaktorami tej reakcji są tetrahydrobiopteryna (BH₄) oraz fosforan dwunukleotydu nikotyn-amido-adeninowego (NADPH) [5, 6]. Oprócz działania naczyniorozkurczowego NO hamuje adhezję i agregację zarówno leukocytów, jak i płytek krwi [7]. Zmniejszając napięcie ściany naczyniowej, NO ogranicza jej przepuszczalność dla składników pokarmowych, hormonów i innych molekuł, a także dla monocytów i granulocytów. Tlenek azotu posiada również własności antyproliferacyjne oraz zapobiega utlenianiu cząsteczek cholesterolu frakcji LDL (*low density lipoprotein*) [8].

W wielu sytuacjach NO wykazuje synergizm działania z prostacyklina — jednym z głównych produktów przemiany kwasu arachidonowego [9]. Prostacyklina wpływa na nasilenie produkcji cyklicznego 3,5-monofosforanu adenozy (cAMP) poprzez aktywację cyklicznej adenylowej. W ten sposób prowadzi do rozkurczu mięśni gładkich naczyń. Posiada także własności antyproliferacyjne [2].

Wśród śródbłonkowych substancji naczyniokurczących najlepiej poznaną jest endotelina-1 (ET-1). Peptyd ten jest uwalniany z komórek śródbłonna pod wpływem trombiny, angiotensyny II, katecholamin, wazopresyny i interleukiny-1. Zwiększoną produkcję ET-1 notuje się w warunkach hipoksji tkankowej [10]. Własności obkurczania ściany naczyniowej wykazują również produkty metabolizmu kwasu arachidonowego powstające pod wpływem działania cyklooksygenazy — prostaglandyna PGF_{2α} oraz troboksan A₂ (TXA₂). Podobne własności mają także aniony ponadtlenkowe (O₂⁻) [11].

Śródbłonek pozostaje w ciągłej interakcji z elementami morfotycznymi krwi. Wzajemne oddziaływania śródbłonna z granulocytami obojętnochłonnymi, monocytami, limfocytami i płytkami krwi regulowane są przez uwalnianie z tych komórek cytokin [12]. W wędrówce granulocytów i monocytów poza światło naczynia biorą także udział (oprócz cytokin) specyficzne śródbłonkowe molekuly adhezyjne łączące się z odpowiednimi ligandami na powierzchni komórek krwi [13].

W warunkach fizjologicznych śródbłonek zapewnia utrzymywanie stanu równowagi między czynnikami regulującymi napięcie ściany naczyniowej, a także pomiędzy aktywnością układu krzepnięcia i fibrynolizy. Śródbłonek może adaptować się do czasowych lub miejscowych potrzeb. Jego specyficzne własności ulegają jednak zaburzeniom w niektórych stanach chorobowych, takich jak nadciśnienie tętnicze, miażdżycy, a zwłaszcza cukrzyca [14].

Dysfunkcja śródbłonna u chorych z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej

Badania przeprowadzone w ostatnich latach wskazują, że u podstaw rozwoju powikłań naczyniowych u osób z nieprawidłową glikemią na czczo, nieprawidłową tolerancją glukozy i cukrzycą leży zaburzona funkcja i struktura śródbłonna. Komórki śródbłonna są szczególnie narażone na działanie hiperglikemii, gdyż transport glukozy do ich wnętrza nie zależy od insuliny i nie podlega zjawisku *down regulation*. Odbywa się on natomiast zgodnie z gradientem stężeń glukozy w płynie wewnątrz- i pozakomórkowym. W warunkach hipergli-

kemii w śródbłonku nasila się przemiana glukozy szlakiem glikolizy. Powstająca wówczas w cyklu Krebsa i łańcucha oddechowego w mitochondriach zwiększona ilość nośników energii prowadzi do nasilonej produkcji O_2^- [15]. Aniony ponadtlenkowe stanowią substrat do tworzenia dalszych, wysoce reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*). Hiperglikemia, reaktywne formy tlenu, późne produkty glikacji białek aktywują wewnątrzkomórkowe kinazy, m.in. kinazę białkową C (PKC, *protein kinase C*) i kinazę białkową aktywowaną mitogenami (MAPK, *mitogen-activated protein kinase*). Zjawisko to w dalszej kolejności prowadzi do aktywacji czynników transkrypcyjnych i trwałych zmian molekularnych w obrębie komórek.

Następstwa aktywacji PKC i MAPK są podobne, niezależnie od tego, czy prowadzi do nich bezpośrednio hiperglikemia, aktywacja reduktazy aldozy, glikacja białek czy stres oksydacyjny. Warunkują one bowiem wzrost syntezy transformującego czynnika wzrostu beta ($TGF\beta$, *transforming growth factor beta*), kolagenu, lamininy, fibronektyny. W następstwie tych zaburzeń dochodzi do pogrubienia błony podstawnej oraz rozplemu substancji międzykomórkowej [16, 17]. Aktywacja PKC i MAPK wiąże się także ze wzrostem syntezy inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1, *plasminogen-activator inhibitor-1*), co prowadzi do hamowania procesów fibrylizacji [18]. Ponadto warunkuje zmiany molekularne lipaz, kinaz oraz zaburzenia syntezy prostanoidów. W warunkach hiperglikemii obserwowano również wzrost syntezy VEGF (*vascular endothelial growth factor*), czynnika zwiększającego przepuszczalność naczyń i wzmagającego ich proliferację [19]. Aktywacja PKC i MAPK, wpływając na czynniki transkrypcyjne, kieruje również regulacją ekspresji genów. Dotychczas najlepiej poznano rolę jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, który uczestniczy m.in. w wywoływaniu i modulowaniu odpowiedzi zapalnej [17]. Działanie czynników transkrypcyjnych powoduje także zaburzenia funkcji komórek, prowadząc do ich destrukcji lub wzmożonej proliferacji. Wzrost stężenia diacyloglicerolu (DAG), produktu pośredniego przemian glukozy torem polioliowym, i związana z tym procesem aktywacja PKC zaburzają syntezę NO i ET-1 w komórkach śródbłonka [20].

Zmiany molekularne wywołane bezpośrednio i pośrednio przez hiperglikemię utrzymują się przez kilka lat i mogą tłumaczyć opisane przez Brownleego zjawisko „pamięci hiperglikemii” [21]. Sugeruje się, że jest ono odpowiedzialne za pojawianie się przewlekłych powikłań cukrzycy także w okresie dobrego wyrównania metabolicznego.

Do uszkodzenia śródbłonka u osób chorych na cukrzycę typu 2 przyczyniają się również nadciśnienie tętnicze i dyslipidemia, współistniejące z reguły z insulino-

opornością i hiperglikemią [11]. Każdy z tych czynników może wywoływać dysfunkcję śródbłonka, a ich działanie wzajemnie się potęguje.

Zaburzenia syntezy i funkcji tlenu azotu jako wyraz dysfunkcji śródbłonka u chorych na cukrzycę

Wczesnym wykładnikiem endoteliopatii cukrzycowej jest zaburzenie zależnej od śródbłonka relaksacji naczyń. Istotną rolę w tym zjawisku odgrywa zmniejszona biodostępność NO, będąca następstwem zaburzonej aktywności i ekspresji eNOS, zmniejszona wrażliwość naczyń na działanie NO oraz zwiększona jego degradacja przez reaktywne formy tlenu [6]. Syntaza NO ma dwojaką postać, co ujawnia się w warunkach hiperglikemii. Z jednej strony, ten kluczowy w syntezie NO enzym jest hamowany przez różne mechanizmy towarzyszące zaburzeniom metabolicznym, z drugiej natomiast może być aktywowany przez mediatory reakcji zapalnej. Staje się on wówczas źródłem reaktywnych form tlenu. Wśród mechanizmów tłumaczących zmniejszoną biodostępność NO na uwagę zasługuje hipoteza ograniczonej dostępności L-argininy, substratu do syntezy NO. Może to wpływać na podwyższone stężenie endogennych inhibitorów NOS — asymetrycznej dimetylargininy (ADMA) oraz N-monometylargininy (NMA). U chorych na cukrzycę stwierdzono wysokie wartości zarówno ADMA, jak i NMA [22]. Wykazano także, że aktywność biologiczna śródbłonkowego NO jest tym mniejsza, im wyższe jest stężenie białka C-reaktywnego [6]. Wiele ostatnio opublikowanych doniesień wskazuje na zaburzenia metabolizmu NO u chorych na cukrzycę. Brak jednak zgodności dotyczącej uzyskanych wyników i ich interpretacji [23–26]. Część autorów pisała o wzroście syntezy i stężenia NO u chorych na cukrzycę [24], inni natomiast nie obserwowali zmian w tym zakresie lub nawet notowali spadek produkcji NO w warunkach zaburzonego metabolizmu glukozy [23, 27, 28]. W badaniach eksperymentalnych śródbłonek poddawany działaniu wysokich stężeń glukozy produkuje zwiększone ilości NO [29]. Z kolei u chorych na cukrzycę wykazano zmniejszoną ekspresję eNOS, interpretując, że jest to jednoznacznie ze zmniejszoną produkcją i uwalnianiem NO [30]. Z badań *in vitro* wynika ponadto, że w warunkach hiperglikemii znaczna część NO ulega inaktywacji w warunkach stresu oksydacyjnego i nasilonej glikacji białek [6]. Przyczyną rozbieżności w piśmiennictwie dotyczących zachowania się NO u chorych na cukrzycę mogą być także stosowane w różnych badaniach odmienne techniki oznaczeń stężenia NO. Trudności badawcze wynikają przede wszystkim z bardzo krótkiego okresu półtrwania tej cząsteczki [20].

Arginina w leczeniu przewlekłych powikłań cukrzycy

W ostatnich latach pojawiło się wiele publikacji dotyczących zastosowania L-argininy w zapobieganiu i leczeniu przewlekłych powikłań cukrzycy.

W badaniach chorych na cukrzycę z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym wykazano, że wlew dożylny małych dawek argininy powoduje zwiększenie osocznego przepływu nerkowego (RPF, *renal plasma flow*) [31]. Piatti i wsp. obserwowali, że doustne podawanie argininy chorym na cukrzycę typu 2 przywraca prawidłowe stężenia cyklicznego guanozyno-monofosforanu (cGMP). W warunkach hiperglikemii stężenie cGMP, będącego drugim przekaźnikiem NO, wyraźnie się obniża. Pośrednio wskazuje to na dysfunkcję komórek śródbłonka. W badaniu tym wraz ze wzrostem cGMP notowano poprawę przepływu w naczyniach przedramienia oraz lepsze wykorzystanie glukozy przez tkanki obwodowe [32]. Ten korzystny efekt metaboliczny NO i L-argininy potwierdzili w swoich badaniach również inni autorzy. Ujawnili oni, że inaktywacja syntazy NO hamuje transport glukozy w inkubowanych komórkach mięśni szkieletowych [33]. Ponadto w badaniach przeprowadzonych na zwierzętach wykazano, że NO jest mediatorem pobudzanej przez insulinę syntezy cGMP w komórkach wysp trzustkowych, ale nie stwierdzano korelacji z ilością wydzielanej insuliny [34].

W modelu cukrzycy streptozotocynowej u szczurów zaobserwowano obniżone stężenia argininy i śródbłonkowej tetrahydrobiopteryny (BH4) oraz zmniejszoną syntezę NO. Stwierdzono ponadto, iż suplementacja argininy w diecie normalizowała te zaburzenia, prowadząc do poprawy czynności komórek śródbłonka [35].

Shi i wsp. [36] wykazali znacznie zmniejszone stężenie NO w miejscach uszkodzenia naskórka. Podawanie argininy przyspieszało gojenie się rany i zwiększało siłę zrostu zarówno u szczurów zdrowych, jak i u szczurów chorych na cukrzycę. Ponadto stwierdzono wzrost stężenia hydroksyproliny i metabolitów NO w miejscu gojenia się rany u szczurów doświadczalnych [36]. Natomiast wyjściowo obniżone stężenia ornityny i aktywność argininazy po podaniu argininy nie zmieniły się. Wydaje się, że lepsze gojenie się rany było wynikiem normalizacji metabolizmu NO [37]. Jedną z charakterystycznych cech źle wyrównanej metabolicznie cukrzycy jest tendencja do trudnego gojenia się ran. Kliniknym przykładem tego stanu mogą być pacjenci z zespołem stopy cukrzycowej, którzy zwykle wymagają bardzo długiego i kompleksowego leczenia, często zakończonego niepowodzeniem. Istnieją dane kliniczne wskazujące, że podawanie argininy poprawia rokowanie i gojenie owrzodzeń w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej mieszanej [J. Gizło, dane nieopublikowane]. Sławiński i wsp. [38]

zaobserwowali, że u pacjentów z miażdżycą tętnic kończyn dolnych już po 7 dniach dożylnego podawania argininy następowało wydłużenie dystansu chromania przestankowego, zwiększenie przepływu krwi w podudziach oraz prężności tlenu w obrębie tętnic niedokrwiłonej kończyny. Korzyści kliniczne leczenia arginina autorzy pracy tłumaczyli m.in. zanotowanym przez nich hamowaniem agregacji płytek krwi i spadkiem aktywności PAI-1 [38]. Obserwacje te potwierdził Chęciński [39] w swoich badaniach obejmujących chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych. W ciągu 28 dni leczenia u pacjentów otrzymujących argininę w dawce 6 g/d. oraz 12 g/d. uzyskano zmniejszenie dolegliwości subiektywnych, wydłużenie dystansu chromania przestankowego (bezbólowego), znamieny wzrost stężenia NO w surowicy, wzrost całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza (TAS, *total antioxidant status*) oraz wzrost stężenia katalazy w erytrocytach. Przeciwdziałanie stresowi oksydacyjnemu przez argininę można tłumaczyć także hamowaniem aktywności reduktazy aldozowej. Enzym ten odgrywa kluczową rolę na szlaku polioliowym, będącym istotnym źródłem reaktywnych form tlenu w warunkach hiperglikemii [40]. W doświadczeniu Cassone-Faldetta i wsp. [41] potwierdzono w grupie 20 chorych na cukrzycę typu 2 z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego i normolipemią, że nawet krótkotrwały wlew dożylny argininy powoduje zwiększenie stężenia NO i grup sulfhydrylowych, zmniejszając tym samym nasilenie stresu oksydacyjnego. Ponadto zanotowano obniżenie ciśnienia tętniczego i stężenia homocysteiny w surowicy krwi [41]. Hiperhomocysteinemia — będąca czynnikiem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego — jest zjawiskiem często spotykanym u chorych na cukrzycę. Jej angiotoksyczne działanie polega m.in. na bezpośrednim chemicznym uszkodzeniu śródbłonka, nasilaniu stresu oksydacyjnego, nasilaniu działania antyagregacyjnego i prokoagulacyjnego oraz hamowaniu syntezy NO [42]. Zatem poprzez ograniczenie niekorzystnych następstw hiperhomocysteinemii podawanie argininy mogłoby wpłynąć na zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na cukrzycę typu 2.

Wiele efektów działania argininy wynika z jej wpływu na syntezę NO. Jednak aminokwas ten wykazuje także wiele działań niezależnych od NO. L-arginina m.in. kontroluje homeostazę wewnątrzkomórkową poprzez regulację komórkowego pH, a także wpływa na polaryzację błon komórek śródbłonka. Arginina posiada właściwości antyoksydacyjne i antyhipertensyjne, a także korzystnie wpływa na lepkość krwi, układ krzepnięcia i fibrynolizy oraz metabolizm glukozy, lipidów i białek [43]. Ponadto suplementacja argininy zmniejsza u chorych na cukrzycę typu 2 podwyższone w warunkach hiperglikemii osocze stężenie międzykomórkowej

cząstki adhezyjnej (sICAM-1, *intercellular adhesion molecule-1*) [44].

Na podstawie przedstawionych danych należy sądzić, że arginina będzie stosowana w prewencji i leczeniu powikłań narządowych u chorych na cukrzycę. W celu potwierdzenia tej sugestii konieczne jest jednak przeprowadzenie dalszych badań klinicznych obejmujących dużą grupę chorych, u których występują zaburzenia gospodarki węglowodanowej.

Streszczenie

Zaburzenie czynności śródbłonna odgrywa istotną rolę w patogeniezie przewlekłych powikłań cukrzycy. Wczesnym wykładnikiem endoteliopatii cukrzycowej jest zaburzenie relaksacji naczyń. W zjawisku tym kluczowe znaczenie ma zaburzona synteza tlenu azotu, wynikająca m.in. z ograniczonej dostępności L-argininy. Badania eksperymentalne i kliniczne wskazują, że suplementacja argininy może przynieść korzyści w prewencji i leczeniu przewlekłych powikłań cukrzycy.

słowa kluczowe: cukrzyca, śródbłonek, arginina

Piśmiennictwo

- Kostka-Trąbka E. Arginina — znany aminokwas o nowych możliwościach zastosowań klinicznych. *Ordynator Leków* 2002; 3: 2–7.
- Gryglewski R.J., Botting R.M., Vane J.R. Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension* 1988; 12: 530–548.
- Haller H. Endothelial function. General consideration. *Drugs* 1997; supl. 1: 1–10.
- De-Meyer G.R., Herman A.G. Vascular endothelial dysfunction. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 1997; 39: 325–342.
- Moncada S., Higgs A. The L-Arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 1993; 30: 2002–2012.
- Kawashima S., Yokoyama M. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 998–1005.
- Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991; 43: 109–142.
- Rubbo H., Trostchansky A., Botti H. i wsp. Interactions of nitric oxide and peroxynitrite with low-density lipoprotein. *Biol. Chem.* 2003; 383: 547–552.
- Took J.E. Microvascular function in human diabetes; A physiological perspective. *Diabetes* 1995; 44: 721–726.
- Hopfner R.L., Gopalakrishnan V. Endothelin: emerging role in diabetic vascular complications. *Diabetologia* 1999; 42: 1383–1394.
- Drexler H., Horning B. Endothelial dysfunction in human disease. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999; 31: 51–60.
- Adams D.H., Shaw S. Leukocyte-endothelial interactions and regulation of leukocyte migration. *Lancet* 1994; 343: 831–836.
- Ley K. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in the inflammatory process. *Cardiovasc. Res.* 1996; 32: 733–742.
- Celermajer D.S. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997; 30: 325–333.
- Brownlee M. Glycation and diabetic complication. *Diabetes Care* 1994; 43: 836–841.
- Koya D., King G.L. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* 1998; 47: 859–866.
- Tomlinson D.R. Mitogen-activated protein kinases as glucose transducers for diabetic complications. *Diabetologia* 1999; 42: 1271–1281.
- Singh R., Barden A., Mori T., Bellin I. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44: 129–146.
- Chiarelli F., Spagnoli A., Basciani F. i wsp. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in children, adolescents and young adults with type 1 diabetes mellitus: relation to glycaemic control and microvascular complications. *Diabet. Med.* 2000; 17: 650–656.
- Sobrevia L., Mann G.E. Dysfunction of the endothelial nitric oxide signalling pathway in diabetes and hyperglycaemia. *Exp. Physiol.* 1997; 82: 423–452.
- Nishikawa T., Edelstein D., Du Liang X. i wsp. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404: 787–790.
- Cooke J.P. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 2032–2037.
- Brands M.W., Fitzgerald S.M. Acute endothelium-mediated vasodilation is not impaired at the onset of diabetes. *Hypertension* 1998; 32: 541–547.
- Chan N.N., Vallance P., Colhoun H.M. Nitric oxide and vascular responses in type I diabetes. *Diabetologia* 2000; 43: 137–147.
- Cohen R.A. Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 87: V67–V76.
- Wierusz-Wysocka B., Zozulińska D., Kempa M., Skowroński M., Murawska A. Ocena stężenia metabolitów tlenu azotu u chorych z typem 1 cukrzycy. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1998; 100: 139–144.
- Williams S.B., Cusco J.A., Roddy M.A., Johnstone M.T., Creager M.A. Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996; 27: 567–574.
- Williams S.B., Goldfine A.B., Timimi F.K. i wsp. Acute hyperglycaemia attenuates endothelium-dependent vasodilatation in humans *in vivo*. *Circulation* 1998; 97: 1695–1701.
- Farkas K., Sarman B., Jermendy G., Somogyi A. Endothelial nitric oxide in diabetes mellitus: too much or not enough? *Diab. Nutr. Metab.* 2000; 13: 287–297.
- Kolb H., Kolb-Bachofen V. Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus and nitric oxide. *Diabetologia* 1992; 35: 796–797.
- Delles C., Schneider M.P., Oehmer S., Fleischmann E.H., Schmieder R.E. L-arginine-induced vasodilation of the renal vasculature is not altered in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 1836–1840.
- Piatti P.M., Monti L.D., Valsecchi G. i wsp. Long-term oral L-arginine administration improves peripheral and hepatic insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2001; 24: 875–880.
- Balon T.W., Nadler J.L. Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 1997; 82: 359–363.
- Jones P.M., Persaud S.J., Bjaaiand T., Pearson J.D., Howell S.L. Nitric oxide is not involved in the initiation of insulin secretion from rat islet of Langerhans. *Diabetologia* 1992; 35: 1020–1027.

35. Kohli R., Meiningner C.J., Haynes T.E., Yan W., Self J.T., Wu G. Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Nutr.* 2004; 134: 600–608.
36. Shi H.P., Most D., Efron D.T., Witte M.B., Barbul A. Supplemental L-arginine enhances wound healing in diabetic rats. *Wound Repair Regen* 2003; 11: 198–203.
37. Witte M.B., Thornton F.J., Tantry U., Barbul A. L-Arginine supplementation enhances diabetic wound healing: involvement of the nitric oxide synthase and arginase pathways. *Metabolism* 2002; 51: 1269–1273.
38. Sławiński M., Grodzińska L., Kostka-Trąbka E. i wsp. L-arginine-substrate for NO synthesis — its beneficial effects in therapy of patients with peripheral arteria disease: comparison with placebo — preliminary results. *Acta Physiol. Hung.* 1996; 84: 457–458.
39. Chęciński P. Badania nad skutecznością suplementacji L-argininy u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych. *Ordynator Leków* 2002; 3: 7–9.
40. Ramana K.V., Chandra D., Srivastava S., Bhatnagar A., Srivastava S.K. Nitric oxide regulates the polyol pathway of glucose metabolism in vascular smooth muscle cells. *FASEB-J* 2003; 17: 417–425.
41. Cassone-Faldetta M., Laurenti O., Desideri G. i wsp. L-arginine infusion decreases plasma total homocysteine concentrations through increased nitric oxide production and decreased oxidative status in type II diabetic patients. *Diabetologia* 2002; 45: 1120–1127.
42. Welch G.N., Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 1042–1050.
43. Tousoulis D., Antoniades C., Tentolouris C., Goumas G., Stefanadis C., Toutouzas P. L-arginine in cardiovascular disease: dream or reality? *Vasc. Med.* 2002; 7: 203–211.
44. Marfella R., Esposito K., Giunta R. i wsp. Circulating adhesion molecules in humans: role of hyperglycaemia and hyperinsulinaemia. *Circulation* 2000; 101: 2247–2251.

w aktywowanych makrofagach. Enzymy uczestniczące w tym procesie nazwano syntetazą tlenu azotu. Dziś już wiadomo, że istnieją trzy izoformy tego enzymu, a wśród nich śródbłonkowa (eNOS), najważniejsza w regulacji układu sercowo-naczyniowego. Tym samym został przełamany dogmat o wyłącznie egzogennym pochodzeniu NO. Tlenek azotu, produkt reakcji syntetyzowanej przez (eNOS) z udziałem L-Argininy, jest obecnie ważnym czynnikiem biorącym udział w regulacji ciśnienia tętniczego i napięcia naczyniowego zarówno u ludzi, jak i u zwierząt [13, 14]. Stwierdzono wpływ NO na podstawowe napięcie ściany naczyniowej [15], a także na odpowiedź naczyniową wywołaną stymulacją fizjologiczną [16, 17] i farmakologiczną [15, 18]. Udowodniono, że NO reguluje napięcie mięśniowe poprzez bezpośredni wpływ na naczynia, a także poprzez osłabienie oddziaływania układu współczulnego [19–21]. Należy wziąć również pod uwagę inne mechanizmy, dzięki którym NO może wywierać działanie na układ sercowo-naczyniowy. Należą do nich: hamujący efekt NO na wydzielanie reniny i endoteliny, modulujący wpływ na wydzielniczą funkcję nerek. Efekty działania NO odbywają się za pośrednictwem cGMP [22]. Sam NO gwałtownie utlenia się do NO_3^- i NO_2^- i jest stopniowo eliminowany z moczem [23]. Biorąc pod uwagę fakt, że czas półtrwania NO jest bardzo krótki (przez co trudno określić jego stężenie), NO_3^- i NO_2^- wydają się być odpowiednimi wskaźnikami dla określenia ilości powstałego NO *in vivo*. Tempo wydalania NO_3^- i NO_2^- oraz cGMP w moczu to czułe wskaźniki tworzenia NO *in vivo* odzwierciedlające modyfikację transdukcji sygnału od L-Argininy do cGMP.

Postępem umożliwiającym potwierdzenie roli przemiany L-Arg-NO w regulacji ciśnienia tętniczego było wprowadzenie do badań pochodnych (analogów) L-Argininy o potencjalnym działaniu hamującym syntezę tlenu azotu w środowisku naczyniowym. Związki takie, jak np. N^G -nitr-metylo-L-arginina (L-NMMA), hamowały śródbłonkową syntetazę tlenu azotu. Różna siła działania tych związków mogła wynikać ze zróżnicowanego stopnia ich dysocjacji, metabolizmu czy różnej zdolności pobierania ich przez tkanki docelowe [24]. Zsyntetyzowanie analogów L-Argininy oraz wykazanie ich działania hamującego syntezę NO stało się podstawą dla podjęcia kolejnych badań.

Od czasu, kiedy odkryto, że L-Arginina (L-Arg) jest naturalnym metabolicznym donorem NO, aminokwas ten skupił na sobie uwagę świata nauki [25]. Stąd w celu określenia roli endogennego NO w różnych procesach fizjologicznych i patofizjologicznych stosowano ten właśnie aminokwas. W licznych ba-

daniach podawano L-Arg zarówno doustnie, jak i dożylnie. Badania te potwierdziły, że infuzja L-Arg powoduje rozkurcz naczyń obwodowych, hamuje agregację płytek, poprawia rozkurczową funkcję śródbłonka w odpowiedzi na znane wazodylatatory (Acetylocholina) oraz zwiększa uwalnianie NO [26–31]. W większości przypadków korzystny efekt L-Argininy obserwowano w stanach chorobowych (tj. naciśnienie tętnicze, hipercholesterolemia), chociaż podobne efekty odnotowano również u zdrowych osób [30, 31]. Wysunięto wniosek, że wazodylatacja jest efektem dostarczania wewnątrzkomórkowego substratu (L-Arg) dla śródbłonkowego enzymu syntetyzującego NO. L-Arginina podawana doustnie zmniejszała ponadto adhezję makrofagów do komórek śródbłonka i zapobiegała postępowi miażdżycy. Autorzy tych spostrzeżeń uznali, że działanie to zależy od wzmożonej przemiany L-Arg-NO, w której L-Arg, będąc substratem syntetazy NO, zwiększała stężenie NO. Potwierdzały to zwiększone stężenie nitratów w surowicy oraz zwiększone wydalanie cGMP z moczem. Wnioskowano, że wazodylatacyjne działanie L-Arg powoduje zwiększoną dostępność wewnątrzkomórkowego substratu dla produkcji NO. Ta popularna teoria została mocno zachwiana, kiedy porównano stężenia wewnątrzkomórkowej L-Arg ze stałą szybkości reakcji (K_m) syntetazy NO. Okazało się wówczas, że wewnątrzkomórkowe stężenie L-Arg (kilkaset μmol) znacznie przekracza K_m enzymu syntetyzującego NO (ok. 5 μmol). W hodowlach komórkowych stwierdzono na przykład, że wewnątrzkomórkowe stężenie L-Arg jest 30–800 razy wyższe niż K_m dla syntetazy NO [32–34]. Wynika z tego, że tempo produkcji NO limitowane jest przez stałą K_m . Zjawisko to po raz pierwszy opisała Sabine Kurz, nazywając je „paradoksem argininy”. Termin ten stał się określeniem używanym w sytuacji, gdzie egzogennie podawana L-Arg wydawała się zwiększać aktywność enzymu, nawet gdy stężenia L-Arg były dostępne w nadmiarze. Nie wszyscy jednak potwierdzali występowanie tego zjawiska. Palmer i Moncada wykazali, że L-Arg nie stymuluje produkcji NO w hodowli komórek nawet w sytuacji, gdy były one pozbawione tego aminokwasu przez 24 h. Podobnie nie stwierdzono zwiększonej odpowiedzi na acetylocholinę przez komórki uzyskane z pierścieni aortalnych pobranych od królików z hipercholesterolemią. Badacze ci wysunęli wniosek, że być może „paradoks argininy” obserwuje się obecnie tylko *in vivo*. Stwierdzili także, że gdyby L-Arg odgrywała rolę tylko jako substrat dla eNOS syntetazy, to powinna być ona tak samo efektywna zarówno *in vivo*, jak i *in vitro*. Zaczęto intensywnie szukać innej możliwości oddziaływania L-Arg na naczynia krwionośne. W badaniach

Giugliano i wsp. [35] zaobserwowano, że dożylna infuzja L-Arg stymuluje także uwalnianie insuliny, a wzrost stężenia insuliny w osoczu odpowiada za wazodylatację naczyń obwodowych, zmniejszenie agregacji płytek i zmniejszenie lepkości krwi. W innym badaniu [35], przeprowadzonym z udziałem 10 zdrowych ochotników, podawano w grupie pierwszej L-Arg w dawce 1 mg/min przez 30 min, a w grupie drugiej L-Arg w identycznej dawce oraz ocerotid (bloker endogennego wydzielania insuliny) i glukagon (25 μg *i.v.* w bolusie, a następnie 0,5 $\mu\text{g}/\text{min}$ przez 30 min). W grupie pierwszej stwierdzono znamienne obniżenie ciśnienia tętniczego (zarówno skurczowego, jak i rozkurczowego), spadek agregacji płytek oraz zwiększenie przepływu krwi w naczyniach kończyn dolnych. W grupie drugiej stwierdzono w porównaniu z grupą pierwszą zmniejszenie o 77% efektu wazodylatacyjnego i o 55% efektu antypłytkowego. Dodatkowo wykazano, że efekt wywołany ocerotidem został przełamany przez podanie insuliny.

Insulina znana jest ze swych właściwości wazodylatacyjnych oraz zwiększania rzutu serca [36]. Jej zdolność do modulowania napięcia mięśni gładkich pojawia się już przy fizjologicznych stężeniach tego hormonu [35]. Przyjmuje się, że przynajmniej część wazoaktywnych działań insuliny jest stymulowana przez endogenne uwalnianie tlenu azotu. W trakcie badania insulinooporności metodą euglikemicznej klamry metabolicznej wykazano, że infuzja insuliny dwukrotnie zwiększyła przepływ krwi przez naczynia kończyn dolnych. Efekt ten był hamowany przez wcześniejsze podanie L-N⁶-monometylargininy [37]. Mechanizm sygnałowy aktywowania syntazy NO pozostaje niezidentyfikowany. Pozostaje także do wyjaśnienia kwestia, czy oddziaływanie L-Arg poprzez insulinę po prostu bezpośrednio wywołuje dylatację naczyniową, czy też może zwiększa wrażliwość śródbłonna na inne wazodylatory działające na przykład przez receptory muskarynowe.

Kolejnym wytłumaczeniem „paradoksu argininy” jest możliwość istnienia inhibitora eNOS, powodującego zwiększone zapotrzebowanie na L-Arg [38]. Hecker i wsp. [34] oraz Sessa i wsp. [39] ujawnili, że proces syntezy L-Arg z L-cytruliny jest hamowany przez L-glutaminę. Stwierdzili ponadto, że aminokwas ten wykazuje właściwości hamujące w stosunku do zwiększonego uwalniania L-Arg pod wpływem ADP [34, 38]. W obu eksperymentach stężenie wewnątrzkomórkowej L-Arg było w nadmiarze do Km syntazy NO [40]. W analizowanych pracach nie wykazano zmniejszenia stężenia L-Arg, co wykluczyło oddziaływanie L-glutaminy na wewnątrzkomórkowe zasoby L-Arg z wtórnym zmniejszeniem

uwalniania NO ze śródbłonna. Mechanizm, w jaki L-glutamina hamuje zależny od śródbłonna rozkurcz naczyń w odpowiedzi na receptorowe pobudzenie, jest złożony. Dziś już wiadomo, że śródbłonkowej syntazy NO nie reguluje bezpośrednio stężenie wapnia wewnątrzkomórkowego, lecz także postranslacyjny poziom fosforylacji [41, 42] oraz inne procesy [43]. Rozważając możliwe miejsca interakcji pomiędzy L-Arg i L-glutaminą stwierdzono, że oba aminokwasy nie mają podobnych mechanizmów transportujących [44]; dodanie L-Arg nie zmienia wewnątrzkomórkowego stężenia L-glutaminy, co sugeruje, że duże stężenie jednego z aminokwasów nie zmienia istotnie dokomórkowego pobierania drugiego z nich; L-glutamina nie zmienia Km dla syntazy NO *in vitro*. Ważną obserwacją był także fakt, że hamujący efekt L-glutaminy pojawia się przy jej fizjologicznych stężeniach w osoczu. Stąd wniosek, że L-glutamina tonicznie hamuje syntezę NO *in vivo*. Stwierdzono, że nawet niewielkie zwiększenie stężenia L-glutaminy (z 0,5 do 2 μmol) powoduje znamienne większe hamowanie uwalniania NO i rozkurczu naczyń zależnego od endotelium. Obecnie trwają badania wyjaśniające, czy procesy chorobowe, w których dochodzi do zaburzenia zależnej od śródbłonna funkcji rozkurczowej, wiążą się ze zmianą metabolizmu lub magazynowania L-glutaminy. Jeśli nie, to pozostaje wyjaśnić, w jaki sposób L-glutamina może oddziaływać na rozkurczową funkcję śródbłonna w kontekście interakcji z L-argininą.

Kolejnym potencjalnym wytłumaczeniem korzystnego działania L-argininy stanowi fakt, że może ona przełamywać działanie endogennych antagonistów eNOS. Jednym z nich są dimetylowe asymetryczne pochodne argininy (ADMA — *asymmetric dimethyl arginine*). W badaniu przeprowadzonym przez Surdackiego i wsp. [45] w grupie 19 mężczyzn ze świeżo rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym oraz 11 mężczyzn z prawidłowym ciśnieniem tętniczym porównano stężenie asymetrycznych dimetyloarginin oraz stężenia azotanów i azotynów powstałych z NO. Obie grupy były porównywalne pod względem wieku, wskaźnika masy ciała (BMI — *body mass index*), klirensu kreatyniny, stężenia cholesterolu, glukozy na czczo oraz stężenia insuliny w surowicy krwi. Stwierdzono znamienne statystycznie zmniejszenie wydalania azotanów i azotynów z moczem oraz znamienne statystycznie zwiększenie stężenia asymetrycznych dimetyloarginin w grupie osób z nadciśnieniem tętniczym. Wykazano ponadto, że ADMA kumuluje się między innymi w osoczu królików na diecie cholesterolowej [46, 47], u osób z niewydolnością nerek i u osób w podeszłym wieku z chorobami naczyń obwodowych. Wykazano, że

stężenie ADMA w osoczu w tych wypadkach jest stosunkowo niskie ($3 \mu\text{mol}$), co wydaje się przeczyć roli ADMA jako antagonisty L-Arg w procesie syntezy NO. Należy jednak podkreślić, że wewnątrzkomórkowe stężenia ADMA nie zostało jak dotąd określone w omawianych przypadkach, a zatem nie jest wykluczone, że jest one wyższe w tkankach niż w osoczu i może w sposób istotny wywierać hamujące działanie na produkcję NO [48]. Trwające badania, dotyczące metabolizmu komórkowego L-Arg i ADMA w różnych jednostkach chorobowych, powinny dostarczyć dodatkowych informacji.

Kolejnych danych tłumaczących korzystne działanie L-Arg w sytuacji, gdy wewnątrzkomórkowe stężenie L-Arg znacznie przekracza K_m eNOS, dostarczył w 1990 roku Paton. Badacz ten sugerował, iż niedociśnienie wywołane podawaniem L-Arg wiąże się ze zwiększonym uwalnianiem histaminy [49]. Już w 1954 roku Eldridge i Paton donosili, że L-Arg stymuluje uwalnianie histaminy ze skóry [50]. W tym samym roku histamina została opisana przez Duffa i Whelana jako potencjalny czynnik wazodylatacyjny [51]. Oba odkrycia stanowiły punkt wyjścia w doświadczeniach Patona. Wnioski wynikające z tych badań podważyli w 1991 roku Hisikawa i wsp., kiedy stwierdzono, że podanie H_1 -antagonisty nie zmniejsza hipotensyjnego efektu wywołanego podawaniem L-Arg [52].

Innym spostrzeżeniem dotyczącym modulowania stężenia L-Arg w endotelium jest obecność enzymu arginazy. Udowodniono, że może ona wywoływać reakcję konwersji L-Arg do ornityny i mocznika. Opisane są obecnie dwie formy tego enzymu: arginaza I, stale obecna w endotelium, oraz arginaza II tzw. zewnątrzwątrobową, indukowana w komórkach endotelium przez lipopolisacharydy oraz interferon γ . Aktywność arginazy hamuje N-hydroksyarginina, pośrednicząca w syntezie NOS. Powyższe spostrzeżenia pozwalają wnioskować, że zmienna aktywność enzymatyczna arginazy, w odpowiedzi na jej zmienną indukcję, może odgrywać ważną rolę w regulacji dostępności L-Arg jako substratu dla syntezy NO. Koncepcja ta wyznacza kierunek przyszłych badań i jest związana z określeniem poziomu ekspresji oraz aktywności arginazy w rozmaitych stanach chorobowych, w których produkcja NO lub bioktywność arginazy jest zmieniona. W tym kontekście korzystny wpływ suplementacji L-Arg byłby wynikiem uzupełniania tej części wewnątrzkomórkowej L-Arg, która ulega rozpadowi pod wpływem zwiększonej aktywności arginazy [53].

Kolejnym krokiem w celu wyjaśnienia mechanizmu, względnie mechanizmów odpowiedzialnych za występowanie „paradoксу argininy” jest hipoteza

[48], że stężenie L-Arg w mikrodomenach komórki nie odzwierciedla całkowitego, dotychczas mierzonego, komórkowego stężenia L-Arg. Jest możliwe, że regulacja transportu L-Arg do tych regionów może być bardziej istotna niż całkowite stężenie L-Arg. Koncepcja ta wymaga dalszych badań.

Stwierdzeniu, że L-Arg ma spełniać jedynie funkcje rozkurczowe, gdyż jest substratem dla reakcji syntezy NO pod wpływem eNOS, przeczą również wyniki badań uzyskane w 1991 roku przez Calvera i wsp. oraz w 1993 roku przez Panza i wsp. [54]. Stwierdzili oni, iż podawana dożylnie L-Arg w dużych dawkach zwiększa przepływ krwi przez naczynia przedramienia. Podobny efekt uzyskali po dożylnym podaniu identycznej dawki D-argininy. Nie jest możliwe, aby oddziaływanie D-argininy, niebędącej substratem reakcji indukowanej przez eNOS, wiązało się ze wzrostem NO. Wyniki te stały się punktem wyjścia dla koncepcji, że hipotensyjne działanie L-Arg jest niespecyficzną odpowiedzią na ten aminokwas. Hipoteza ta nie została jak dotąd udowodniona.

Inną nierozstrzygniętą kwestią pozostaje określenie kolejności zdarzeń: czy nadcisnienie wtórnie wywołuje zaburzenia funkcji przemiany L-Arg-NO, czy też zaburzenia przemiany L-Arg-NO uczestniczą w rozwoju nadcisnienia tętniczego? Większość eksperymentalnych doniesień sugeruje, że rozkurczowa funkcja endotelium jest upośledzona u chorych z podwyższonymi wartościami ciśnienia tętniczego, a stopień dysfunkcji zwiększa się wraz ze wzrostem ciśnienia [55]. Nie określono jednak, czy zaburzona funkcja śródbłonna jest przyczyną, czy też konsekwencją nadcisnienia. Konishi i Su jako pierwsi donieśli, że zależna od śródbłonna relaksacja tętnic u szczurów z samoistnym nadcisnieniem tętniczym (SHR, *spontaneously hypertensive rats*) jest upośledzona [56]. Podobne wyniki uzyskano u ludzi. U chorych z nadcisnieniem pierwotnym stwierdzono mniejszą odpowiedź wazodylatacyjną po podaniu acetylocholino niż u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego [57–59]. Słabsze działanie na podane substancje wazodylatacyjne tłumaczono dysfunkcją śródbłonna u chorych z długotrwałym nadcisnieniem. Kolejną grupę dowodów stanowią badania z podaniem inhibitorów syntetazy NO u osób z prawidłowym ciśnieniem oraz u osób z nadcisnieniem tętniczym. Fakt, że inhibicja syntezy NO u pacjentów z nadcisnieniem wywołuje mniejsze efekty naczynioskurczowe, świadczy o występowaniu w tym przypadku zaburzeń drogi L-Arg-NO [57]. W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono także funkcji śródbłonna w naczyniach nerkowych w przebiegu nadcisnienia tętniczego.

Wiąże się to z faktem, że łożysko naczyniowe nerek jest szczególnie wrażliwe na zaburzenie funkcji śródbłonna [60]. Ponieważ nerka może być zarówno narządem uszkodzonym w przebiegu choroby nadciśnieniowej, jak i przyczyną nadciśnienia tętniczego, znaczenie krążenia nerkowego powinno być szczególnie dokładnie określone [61]. Higashi i wsp. [63] badali, czy wiek i nadciśnienie są czynnikami powodującymi dysfunkcję śródbłonna. Wspomniani autorzy określali stężenie cGMP oraz nerkowe parametry hemodynamiczne w odpowiedzi na egzogenne podawanie L-Arg. Wyniki tych badań wskazują, że proces starzenia i nadciśnienie tętnicze mogą niezależnie od siebie zaburzać śródbłonkowo-zależny rozkurcz tętnic nerkowych. Stwierdzono przy tym, że zmiana ta przynajmniej częściowo zależna jest od zmniejszenia produkcji NO. Higashi i wsp. [61] przeprowadzili badanie z udziałem 13 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i 15 osób z grupy kontrolnej. W obu grupach podano L-Arg w infuzji w dawce (500 mg/kg m.c. przez 30 min). W obu grupach stwierdzono porównywalny spadek średniego ciśnienia tętniczego, jednak spadek oporu naczyń nerkowych był wyraźnie mniejszy u osób z nadciśnieniem tętniczym. Wyniki badań sugerują, że dysfunkcja przemiany L-Arg-NO w łożysku naczyniowym jest obecna już w łagodnym nadciśnieniu tętniczym, któremu towarzyszy prawidłowy nerkowy przepływ osocza i klirens kreatyniny oraz że zaburzenie przemiany L-Arg-NO jest raczej konsekwencją nadciśnienia i odgrywa istotną patogenetyczną funkcję w jego utrzymaniu i rozwoju [61]. Do wyjaśnienia pozostaje, na jakim etapie tej przemiany dochodzi do zaburzeń. Przyjmując mechanizm wazodylatacyjnego działania L-Arg za pośrednictwem insuliny Higashi i wsp. badali odpowiedź na dożylną infuzję L-Arg w dawce (500 mg/kg m.c. przez 30 min) u chorych z nadciśnieniem tętniczym (bez otyłości i cukrzycy), w porównaniu z grupą z prawidłowym ciśnieniem tętniczym (grupa kontrolna). Przy porównywalnych wartościach glikemii oraz wyższych stężeniach insuliny u osób z nadciśnieniem tętniczym stwierdzono słabszą reakcję rozkurczową naczyń nerkowych oraz mniejszy wzrost stężenia cGMP niż w grupie kontrolnej. Potwierdzono fakt upośledzonej funkcji rozkurczowej naczyń nerkowych zależnej od śródbłonna, a pośrednio także zmniejszoną wrażliwość na insulinę chorych z nadciśnieniem tętniczym. W 1998 roku Vaziri i wsp. [64] przeprowadzili także badania z 3-tygodniowymi szczurami SHR przed ujawnieniem się nadciśnienia tętniczego oraz tuż po ujawnieniu się nadciśnienia. Młody wiek szczurów miał zapobiec wpływowi wieku i przedłużonego działania nadciśnienia tętniczego na śródbłonek naczynio-

wy. U szczurów SHR z rozwiniętym nadciśnieniem tętniczym stwierdzono: podwyższone wartości ciśnienia tętniczego, wzrost wydalania z moczem metabolitów NO, podwyższoną aktywność syntetazy śródbłonkowej NO. U szczurów SHR w okresie przed ujawnieniem się nadciśnienia uzyskano przy prawidłowym ciśnieniu tętniczym podobne rezultaty. Stwierdzono, iż aktywność przemiany L-Arg-NO u młodych szczurów SHR zarówno przed wystąpieniem nadciśnienia jak i w początkowym okresie nadciśnienia tętniczego jest wzmożona. Na podstawie powyższych danych autorzy wsunęli wniosek, że rozwój nadciśnienia tętniczego nie jest związany z pierwotnym zaburzeniem produkcji NO, a wzmożona aktywność układu L-Arg-NO wydaje się być swoistą kompensacją początkowego etapu nadciśnienia. Wyniki badań ostatnich lat wskazują, że L-Arg posiada zdolność odwracania zmian nadciśnieniowych w naczyniach i kłębuszkach nerek. Ono i wsp. [65] badali wpływ podawania L-Arg na zmiany hemodynamiczne i histopatologiczne w nerkach i krążeniu systemowym u 85-tygodniowych szczurów z nadciśnieniem tętniczym. Zarówno dożylna, jak i rozpuszczana w wodzie pitnej L-Arg powodowała poprawę hemodynamiczną (wzrost GFR — *glomerular filtration rate* — przesączanie kłębuszkowe), zmniejszenie ilości zmian nefrosklerotycznych, a także zmniejszenie proteinurii w porównaniu z grupą kontrolną.

Wyniki tych eksperymentów oraz wielu innych badań klinicznych wskazują na korzystne działanie zwiększonej podaży L-Arg w chorobie nadciśnieniowej. Jednak zarówno mechanizmy nefroprotektcyjne wpływu L-Arg, jak również czas optymalnego włączenia tego aminokwasu w naturalnym przebiegu choroby nadciśnieniowej są jeszcze słabo poznane i wymagają dalszych badań.

W świetle obecnych badań, niezależnie od mechanizmu inicjującego i podtrzymującego postęp zmian w nadciśnieniu tętniczym, dysfunkcja śródbłonna naczyniowego odgrywa istotne znaczenie. Ze względu na niezwykle ważną rolę, jaką spełnia NO w fizjologii i patofizjologii człowieka, dokładne poznanie mechanizmów, w których jego aktywność biologiczna zostaje zaburzona, może mieć duże znaczenie dla rozwoju nowych typów leków, skutecznych w chorobach układu sercowo-naczyniowego. L-arginina, przypuszczalnie poprzez mechanizm uwalniania NO, poprawia zaburzoną funkcję śródbłonna u chorych z nadciśnieniem tętniczym. Brak poważnych działań niepożądanych powoduje, że L-Arg zaczyna się uznawać za bezpieczne i efektywne narzędzie w leczeniu wspomagającym w tej grupie chorych.

Streszczenie

Od czasu, kiedy odkryto, że L-Arginina (L-Arg) jest naturalnym, metabolicznym donorem NO, na tym aminokwasie skupiła się uwaga naukowców. W licznych badaniach, w których L-Arg podawano w postaci doustnej jak i dożylniej, obserwowano rozkurcz naczyń obwodowych, poprawę rozkurczowej funkcji śródbłonna oraz zwiększone uwalnianie tlenku azotu (NO). Wnioskowano, że wazodylatoryczne działanie L-Arg powoduje zwiększoną dostępność wewnątrzkomórkowego substratu dla produkcji NO. Wkrótce jednak okazało się, iż wewnątrzkomórkowe stężenie L-Arg znacznie przekracza wartość stałej szybkości reakcji syntezy NO. Przeprowadzono wiele badań eksperymentalnych i klinicznych mających na celu poznanie mechanizmów korzystnego oddziaływania L-Arg na układ sercowo-naczyniowy. Szczególną uwagę poświęcono próbie określenia znaczenia dysfunkcji układu L-Arg-NO w naciśnieniu tętniczym. Coraz więcej przesłanek klinicznych potwierdza korzyści wynikające z suplementacji L-Arg w tej jednostce chorobowej.

słowa kluczowe: L-Arginina, tlenek azotu, insulina, L-glutamina, naciśnienie tętnicze

Naciśnienie Tętnicze 2001, tom 5, nr 2, strony 133–139.

Piśmiennictwo

1. Brucke E.: An essay on the cause of the coagulation of the blood. *Br. Foreign. Med. Cir. Rev.* 1857, 19, 183–212.
2. Furchgott R., Zawadzki J.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980, 288, 373–376.
3. Palmer R., Ferrige A., Moncada S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987, 327, 524–526.
4. Anggard E.: Nitric oxide, mediator, murderer and medicine. *Lancet* 1994, 343, 1199–1206.
5. Forte P., Copland M., Smith L., Milne E., Sutherland J., Benjamin N.: Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet* 1997, 349, 837–842.
6. Taddei S., Virdis A., Mattei P., Ghiadoni L., Sudano I., Salvetti A.: Defective L-arginine — nitric oxide pathway in offspring of essential hypertensive patients. *Circulation* 1996, 94, 1298–1303.
7. Benjamin N., Vane J.: Nitric oxide and hypertension. *Circulation* 1996, 94, 1197–1198.
8. Uman J.: Less nitric oxide, more pressure, or the converse. *Lancet* 1997, 349, 816–817.
9. Creager M., Cooke J., Mendelshon M. i wsp.: Impaired vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.* 1990, 86, 228–234.
10. Ludmer P., Selwyn A., Shook T. i wsp.: Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1986, 315, 1046–1051.

11. Zeiher H., Drexler H., Wollschlaeger H., Just H.: Modulation of coronary vasomotor tone in humans, progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991, 83, 391–401.
12. Palmer R., Rees D., Ashton D., Moncada S.: L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Bioch. Biophys. Res. Commun.* 1988, 153, 1251–1256.
13. Moncada S., Higgs A.: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 1993, 329, 2002–2012.
14. Haynes W., Noon J., Walker B., Webb D.: Inhibition of nitric oxide synthesis increases blood pressure in healthy humans. *J. Hypertens.* 1993, 11, 1375–1380.
15. Vallance P., Collier J., Moncada S.: Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989, 2, 997–1000.
16. Scherrer U., Randin D., Vollenweider P., Vollenweider L., Nicod P.: Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J. Clin. Invest.* 1994, 94, 2511–2515.
17. Pohl U., Busse R.: Hypoxia stimulates the release of endothelium-derived relaxant factor (EDRF). *Am. J. Physiol.* 1989, 256, 1595–1600.
18. Tagawa T., Imaizumi T., Endo T. i wsp.: Vasodilatory effect of arginine vasopressin is mediated by nitric oxide in human forearm vessels. *J. Clin. Invest.* 1993, 92, 1483–1490.
19. Hansen J., Jacobsen T., Victor R.: Is nitric oxide involved in the tonic inhibition of central sympathetic outflow in humans? *Hypertension* 1994, 24, 439–444.
20. Owlya R., Vollenweider L., Trueb L. i wsp.: Cardiovascular and sympathetic effects of nitric oxide inhibition at rest and during static exercise in humans. *Circulation* 1997, 96, 3897–3903.
21. Owlya R., Vollenweider L., Nicod P., Scherrer U.: L-NMMA suppresses mental stress-induced sympathetic and pressor responses in humans. *Hypertension* 1996, 28, 512.
22. Murad F.: Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J. Clin. Invest.* 1986, 78, 1–5.
23. Ignarro L.: Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1990, 30, 535–560.
24. Mayer B., Schmidt K., Humber P., Bohme E.: Biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: a cytosolic enzyme in porcine aortic endothelial cells Ca^{2+} dependently converts L-arginine into an activator of soluble guanylate cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989, 164, 678–685.
25. Tenenbaum A., Fisman E.Z., Motro M.: L-Arginine, rediscovery in progress. *Cardiology* 1998, 90, 153–159.
26. Girerd X., Hirsch A., Cooke J., Dzau V., Creager M.: L-arginine augments endothelium-dependent vasodilation in cholesterol-fed rabbits. *Circ. Res.* 1990, 67, 1301–1308.
27. Creager M., Gallagher S., Girerd X., Coleman S., Dzau V., Cooke J.: L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.* 1992, 90, 1248–1253.
28. Cooke J., Andon N., Girerd X., Hirsch A., Creager M.: Arginine restores cholinergic relaxation of hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. *Circulation* 1991, 83, 1057–1062.
29. Drexler H., Zeiher A., Meinzer K., Just H.: Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991, 338, 1546–1550.
30. Panza J., Casino P., Badar D., Quyyumi A.: Effect of increased availability of endothelium-derived nitric oxide precursor on endothelium-dependent vascular relaxation in normal

subjects and in patients with essential hypertension. *Circulation* 1993, 87, 1475–1481.

31. Nakaki T., Haishikawa K., Suzuki H., Saruta T., Kato R.: L-arginine-induced hypotension. *Lancet* 1990, 336, 696.

32. Forstermann U., Closs E., Pollock J. i wsp.: Nitric oxide synthase isoenzymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994, 23, 1121–1131.

33. Baydoun A., Emery P., Pearson J., Mann G.: Substrate-dependent regulation of intracellular amino acid concentrations in cultured bovine aortic endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1990, 173, 940–948.

34. Hecker M., Sessa W., Harris H., Anggard E.: The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor, cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990, 87, 8612–8616.

35. Giugliano D., Marfell R., Verrazzo G. i wsp.: The vascular effects of L-arginine in humans. The role of endogenous insulin. *J. Clin. Invest.* 1997, 99, 433–438.

36. Baron A.: Hemodynamic actions of insulin. *Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.)* 1994, 267, 187–202.

37. Steinberg H., Brechtel N., Johnson N., Fineborg N., Baron A.: Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation in nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J. Clin. Invest.* 1994, 94, 1172–1179.

38. Vallance P., Leone A., Calver J., Collier J., Moncada S.: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992, 339, 572–575.

39. Sessa W., Hecker M., Mitchell J., Vene J.: The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor, L-glutamine inhibits the generation of L-arginine by cultured endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990, 87, 8607–8611.

40. Pollock J., Forstermann U., Mitchell J. i wsp.: Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 104080–104084.

41. Bredt D.S., Ferris S.D., Snyder S.H.: Nitric oxide synthase regulatory sites. Phosphorylation by cyclic AMP-dependent protein kinase, protein kinase C and calcium/calmodulin protein kinase, identification of flavin and calmodulin binding sites. *J. Biol. Chem.* 1992, 267, 10976–10981.

42. Michel T., Li G., Busconi L.: Phosphorylation and subcellular translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993, 90, 6252–6256.

43. Nathan C., Xie Q.: Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J. Biol. Chem.* 1992, 269, 13725–13728.

44. Bussolati O., Sala R., Astorri A., Rotoli B., Dall'Asta V., Gazolla G.: Characterization of amino acid transport in human endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 1993, 265, 1006–1014.

45. Surdacki A., Nowicki M., Sandmann J. i wsp.: Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1999, 33, 625–628.

46. Chen P., Sanders P.: Role of nitric oxide synthesis in salt sensitive hypertension in Dahl Rapp rats. *Hypertension* 1993, 22, 812–818.

47. Cooke J., Singer A.H., Tsao P., Zera P., Rowan R., Billingham M.: Antyatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J. Clin. Invest.* 1992, 90, 1168–1172.

48. David G., Harrison D.: Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J. Clin. Invest.* 1997, 9, 2153–2157.

49. Paton W.: L-Arginine-induced hypotension (letter). *Lancet* 1990, 336, 1016.

50. Eldridge E., Paton W.: Release of histamine perfused skin by aminoacids. *J. Physiol. (Lond.)* 1954, 124, 27–28.

51. Duff F., Whelan R.: The effect of antihistamine substances on the response to histamine of the blood vessels of the human forearm. *Br. J. Pharmacol.* 1954, 9, 413–418.

52. Hishikawa K., Nakaki T., Suzuki H., Saruta T., Kato R.: L-arginine-induced hypotension (letter). *Lancet* 1991, 337, 683–684.

53. Buga G., Singh R., Pervin S. i wsp.: Arginase activity in endothelial cells, inhibition by N^C-hydroxy-L-arginine during high-output NO production. *Am. J. Physiol.* 1996, 271, 1988–1998.

54. Calver A., Collier J., Vallance P.: Dilator action of arginine in human peripheral vasculature. *Clin. Sci.* 1991, 81, 695–700.

55. Dohi Y., Thiel M., Buhler F., Luscher T.: Activation of endothelial L-arginine pathway in resistance arteries, effects of age and hypertension. *Hypertension* 1990, 15, 170–179.

56. Konishi M., Su C.: Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension* 1983, 5 (6), 881–886.

57. Panza J., Quyyumi A., Brush J., Epstein S.: Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1990, 323, 22–27.

58. Panza J., Casino P., Kilcone C., Quyyumi A.: Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation* 1993, 87, 1468–1474.

59. Treasure C., Klein J., Vita J. i wsp.: Hypertension and left ventricular hypertrophy are associated with impaired endothelium-mediated relaxation in human coronary resistance vessels. *Circulation* 1993, 87, 86–93.

60. Salazar F., Pinilla J., Lopes F., Romero J., Quesada T.: Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1992, 20, 113–117.

61. Higashi Y., Oshima T., Ozono R., Matsuura H., Kambe M., Kajiyama G.: Effects of L-Arginine infusion on renal hemodynamics in patients with mild essential hypertension. *Hypertension* 1995, 25, 898–902.

62. Higashi Y., Oshima T., Sasaki N. i wsp.: Relationship between insulin resistance and endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *Hypertension* 1997, 29, 280–285.

63. Higashi Y., Oshima T., Ozono R., Watanabe M., Matsuura H., Kajiyama G.: Aging and severity of hypertension attenuate endothelium-dependent renal vascular relaxation in humans. *Hypertension* 1997, 30, 252–258.

64. Vaziri N.D., Ni Z., Oveisi F.: Upregulation of renal and vascular nitric oxide synthase in young spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1998, 31, 1248–1254.

65. Ono H., Ono Y., Frolich E.: L-arginine reverses severe nephrosclerosis in aged spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 1999, 17, 121–128.

Poznanie metabolizmu argininy w cyklu mocznikowym umożliwiło zastosowanie jej w następujących przypadkach klinicznych:

- zaburzenia czynności wątroby związane z nieprawidłowym przebiegiem cyklu mocznikowego,
- zatrucie ustroju amoniakiem,
- stany asteniczne, niedożywienie,
- zastosowanie L-argininy jako aminokwasu zwiększającego odporność mięśni na zmęczenie w trakcie długotrwałego wysiłku,
- alkaloza hipochloremiczna,
- próby czynnościowe podwzgórza.

Zastosowanie L-argininy jako substratu do syntezy tlenku azotu

W ostatnich latach zainteresowanie arginina jako lekiem znacznie wzrosło. Wykazano bowiem, że cykl mocznikowy nie jest jedynym szlakiem metabolizmu argininy oraz, że w tkankach nie wytwarzających mocznika, arginina (przy udziale tlenu i enzymu zwanego syntazą tlenku azotu) przechodzi wprost w cytrulinę (z pominięciem ornityny). W reakcji tej wytwarza się wolny rodnik tlenku azotu ($^{\circ}\text{NO}$) (6). Biosynteza NO jest katalizowana przez grupę enzymów zwaną syntazami tlenku azotu (NOS) (rycina 2). Koenzymami tej reakcji są: zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynamido-adeninowego (NADPH), tetrahydrobiopteryna (BH_4), mononukleotydyd flawinowy, dinukleotyd flawino-ade-

ninowy. Syntazy tlenku azotu występują w trzech izoformach. Dwie są zależne od Ca^{2+} i kalmoduliny – tak zwana konstytutywna neuronalna (NOS-1) i konstytutywna śródłonkowa (NOS-3), a jedna – tak zwana indukowalna (NOS-2) jest od nich niezależna. Konstytutywna śródłonkowa NOS-3 (stałe obecna w warunkach fizjologicznych) wytwarza w sposób ciągły niewielkie (pikomolarne) ilości NO, które odgrywają ważną rolę w regulacji napięcia ściany naczyń, utrzymaniu homeostazy pomiędzy komórkami krwi krążącej a ścianą naczyń oraz w neurotransmisji sygnałów. Według Stockleta, jednym z czynników aktywujących śródłonkową syntazę NOS-3 jest czerwone wino, które zawiera duże ilości polifenoli o właściwościach przeciwutleniających.

Tlenek azotu po rozpuszczeniu w wodzie „dobiera sobie” elektron, staje się lipofilną cząsteczką, która łatwo dyfunduje przez błonę komórkową i łącząc się z żelazem grupy hemowej cytozolowej cyklazy guanylowej (sGC) aktywuje ją. Stymulacja cyklazy guanylowej prowadzi do nagromadzenia się cyklicznego GMP i rozkurczu mięśniówki gładkiej (między innymi – mięśniówki naczyń krwionośnych) (6). NO, poza działaniem rozkurczającym naczyń, hamuje agregację płytek krwi, zmniejsza ich przyczepność do ściany naczyń, zmniejsza odkształcalność erytrocytów, zmniejsza aktywność i uwalnianie inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI), aktywując w ten sposób układ fibrynolityczny,

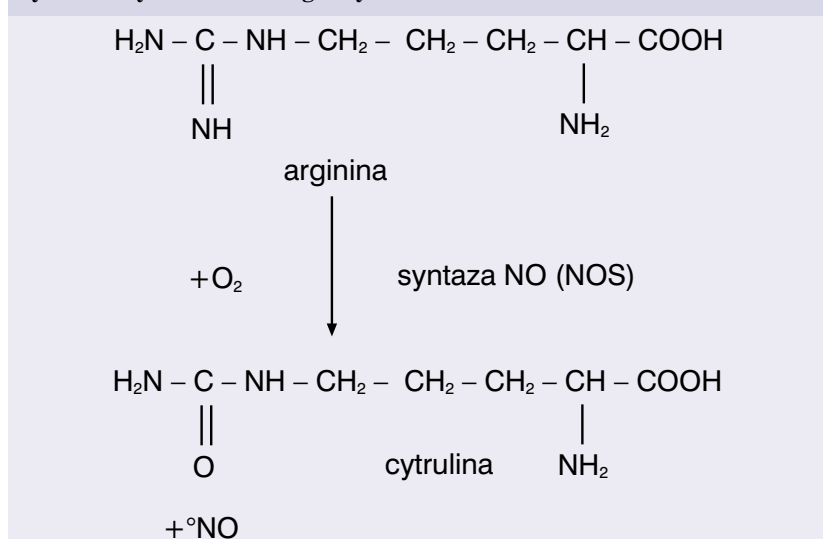
a ponadto – hamuje przebudowę (ang. *remodeling*) ściany naczyń krwionośnych (7).

Badania nad zastosowaniem L-argininy w leczeniu chorób związanych z niedoborem tlenku azotu

Odkrycie szlaku metabolicznego arginina-NO ujawniło nowe, szerokie możliwości terapeutycznego zastosowania argininy. Wiadomo bowiem, że w przypadku wielu chorób, występują istotne niedobory NO. Odnotowano je między innymi w hipercholesterolemii, miażdżycy (8, 9), nadciśnieniu płucnym (10), cukrzycy (6, 7, 9, 11) i przewlekłej niewydolności nerek (12). Istnieje możliwość substytucji endogennego NO przez podanie leków, które go uwalniają, tak zwanych donorów NO. Donorem NO jest na przykład nitrogliceryna (9) – lek, który zaczęto stosować o wiele wcześniej niż poznano mechanizm jego działania. Innym sposobem leczenia schorzeń związanych z niedoborem NO jest podanie substratu, z którego on powstaje, to jest – L-argininy. Warunkiem skuteczności leczenia jest dostateczna aktywność znajdującej się w tkankach konstytutywnej syntazy NO. Podanie nadmiaru substratu nie prowadzi do wytworzenia zbyt dużych ilości NO (13), gdyż mogą one powstawać tylko w przypadku indukcji enzymu, a nadmiar substratu jej nie powoduje.

W 1991 r. L-arginina została zastosowana przez badaczy japońskich w terapii pacjentów z bólami o różnej etiologii (13). Podana dożylnie w dawce 30 g aktywowała biosyntezę kytorfiny, która uwalniała met-enkefalinę o działaniu analgetycznym. U pacjentów z bólami chronicznymi wywoływała, poza efektem analgetycznym, uczucie ciepła w kończynach dolnych i górnych oraz w klatce piersiowej. Ten ostatni efekt był prawdopodobnie rezultatem uwalniania NO. Obserwacje te zapoczątkowały liczne badania nad mechanizmem działania L-argininy w ustroju oraz nad potencjalnymi możliwościami wyko-

Rycina 2. Synteza NO z argininy



rzystania jej jako leku w terapii różnych chorób.

Nadciśnienie tętnicze

Występujące w wielu chorobach układu krążenia uszkodzenie śródbłonna naczyniowego prowadzi do skurczu naczyń, wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, wzrostu aktywności agregacyjnej płytek, jak też do przebudowy ściany naczynia. Obecnie wiadomo, iż komórki śródbłonna wytwarzają NO, który pełni ważne funkcje regulacyjne w układzie krążenia oraz, że dysfunkcja śródbłonna naczyniowego wynika z zaburzonej syntezy NO lub całkowitego jej braku. Znaczenie NO w regulacji krążenia wykazano dzięki zastosowaniu *in vivo* i *in vitro* inhibitorów NOS – analogów L-argininy: L-NMMA (NG-monometylo-L-argininy) oraz L-NNA (NG-nitro-L-argininy). W doświadczeniach przeprowadzonych na zwierzętach wykazano, że dożylnie podanie L-NMMA powoduje wzrost ciśnienia tętniczego krwi wywołany zwiększeniem oporu naczyniowego we wszystkich łożyskach naczyniowych (14) oraz, że przewlekłe podawanie inhibitorów NOS drogą pokarmową prowadzi do trwałego wzrostu ciśnienia krwi. W badaniach przeprowadzonych u ludzi wykazano, że podanie L-NMMA do tętnicy łokciowej hamuje indukowane acetylocholiną rozszerzenie naczyń kończyny górnej (15). Podanie tego antymetabolitu do tętnic wieńcowych wywołuje skurcz, rozszerzonego wcześniej podaniem acetylocholiną, łożyska wieńcowego (16). W doświadczeniach przeprowadzonych na szczurach wykazano, że podanie innego antymetabolitu, L-nitro-argininy (L-NAME), wywołuje niedokrwienie mięśnia sercowego, a długotrwałe jego stosowanie – rozwój kardiomiopatii niedokrwiennej (17). U chorych z nadciśnieniem tętniczym stwierdzono obecność we krwi endogennego inhibitora NOS – asymetrycznej dwumetylopochovej L-argininy (ADMA). Wyniki badań przeprowadzonych na zdrowych ochotnikach wykazały, że podanie ADMA do tętnicy łokciowej wywołuje wzrost ciśnienia krwi w przedramieniu (18). Równoczesne poda-

nie L-argininy zapobiega wyższemu ciśnieniu. Przedstawione powyżej dane wskazują, że NO pełni istotną rolę w utrzymywaniu prawidłowego ciśnienia krwi, prawidłowego oporu obwodowego i przepływu krwi. Brak odpowiedzi lub zredukowana odpowiedź na podanie L-argininy były niejednokrotnie odnotowywane w przypadku pewnej grupy chorych z nadciśnieniem. Przypuszcza się, iż dotyczyło to grupy osób ze zmniejszoną ekspresją NOS-3. Dodanie substratu L-argininy nie mogło wywołać u nich wzrostu syntezy NO i działać rozszerzająco na naczynia (10). Również nadmiar tworzonych w przebiegu nadciśnienia anionów ponadtlenkowych może prowadzić do inaktywacji NO i – w konsekwencji – do rozwoju choroby wynikającej z jego niedoboru (19).

Nadciśnienie indukowane ciążą

Nadciśnienie indukowane ciążą jest najprawdopodobniej schorzeniem wynikającym z dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, spowodowanym dysproporcją i zaburzeniem stanu równowagi w układzie substancji rozkurczających naczynia (PGI₂ i NO) oraz kurczących naczynia (TXA₂, ET₁), z dominacją tych ostatnich (20, 21). Z hipotezą tą zgodne są wyniki badań przeprowadzonych u ludzi (wskazujące, iż eliminacja NO ze śródbłonna prowadzi do nadciśnienia) oraz wyniki doświadczeń przeprowadzonych na zwierzętach (wskazujące, iż zahamowanie syntezy NO przy pomocy L-NAME powoduje powstanie objawów obserwowanych w gestozie z nadciśnieniem, białkomoczem oraz zwiększenie zachorowalności i śmiertelności noworodków) (22, 23). Rozwój nadciśnienia indukowanego ciążą jest najprawdopodobniej spowodowany zaburzeniem w układzie L-arginina–NO z następową inaktywacją cykazy guanylowej w śródbłonku i zmniejszeniem ilości cyklicznego 3'5' monofosforanu guanozyny (c-GMP). Przypuszczenie to jest zgodne z obserwacją, iż obniżonemu stężeniu c-GMP w krążeniu łożyskowym towarzyszy zmniejszenie przepływu krwi w tym obszarze naczyniowym (24). Uważa się, że tlenek azotu produkowany

przez naczynia łożyskowe pełni kluczową rolę w regulacji przepływu krwi przez ten narząd, a zaburzenia w regulacji jego wytwarzania mogą być odpowiedzialne za występowanie nadciśnienia indukowanego ciążą oraz nieprawidłowości w rozwoju dziecka (25, 26). Powstaje więc pytanie, czy podanie prekursora tlenu azotu – L-argininy – może zapobiegać negatywnym skutkom zaburzeń w regulacji jego wytwarzania.

Wyniki badań modelowych przeprowadzonych na zwierzętach skłoniły do podjęcia randomizowanych prób klinicznych nad zastosowaniem L-argininy w formie doustnej u pacjentek z nadciśnieniem w przebiegu ciąży (27, 28). W próbie klinicznej przeprowadzonej przez Rytlewskiego i wsp. (27) L-argininę podawano kobietom z nadciśnieniem indukowanym ciążą w dawce 6 g na dobę. W czasie leczenia uzyskiwano normalizację ciśnienia i wzrost obniżonego stężenia azotanów/azotanów w surowicy krwi, a więc doprowadzono do zniesienia niedoboru substratu do ich produkcji. Nie odnotowano objawów zatrucia ciążowego, a urodzone noworodki rodziły się o czasie i były zdrowe (u większości kobiet z nadciśnieniem indukowanym ciążą występują objawy zatrucia ciążowego i zwykle dochodzi do obumierania płodu lub do śmierci noworodka). Wydaje się więc, że niedobór NO odgrywa istotną rolę w rozwoju nadciśnienia u kobiet w ciąży oraz, że doustne podanie L-argininy może bezpiecznie i skutecznie wyrównać ten niedobór. Prowadzone są również próby zastosowania L-argininy podczas zagrażającego porodu (29), jak również porodu przedwczesnego (30). Jest jednak za wcześnie na ostateczne wnioski, a proponowany sposób terapii wymaga jeszcze dalszych badań.

Nadciśnienie płucne

Tlenek azotu pełni istotne funkcje w obrębie układu oddechowego – rozszerza mięśnie gładkie oskrzeli oraz wywiera wpływ na wydzielanie śluzu i czynność aparatu ręskowego (31). Podejmowane są próby stosowania NO w nadciśnieniu płucnym, chorobach obturacyjnych

płuc i ostrym zapaleniu płuc (31). NO wdychany w stężeniu 10–40 ppm działa miejscowo, rozszerzając oskrzela i mięśnie gładkie naczyń poprawia natlenowanie płuc (32). Przetrwale nadciśnienie płucne to jedna z najgroźniejszych jednostek chorobowych występujących u noworodków. Zaobserwowano, iż w schorzeniu tym zmniejszona jest synteza tlenu azotu (33). Zastosowanie u chorych noworodków inhalacji tlenu azotu powoduje relaksację mięśniówki, wpływając korzystnie na wentylację płuc i perfuzję. Wyniki wielośrodkowych badań klinicznych nad zastosowaniem tej formy terapii wskazują na jej skuteczność (uzyskiwanie wyraźnej poprawy natlenowania krwi tętniczej) oraz brak efektów ubocznych (34). Ponadto odnotowano spadek umieralności noworodków i zmniejszenie występowania przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (35).

Miażdżycza tętnic kończyn dolnych

Wspomniane uprzednio wyniki badań uczonych japońskich nad efektami podawania L-argininy pacjentom z bólami o różnej etiologii stały się podstawą do zastosowania jej u pacjentów z miażdżyczą tętnic kończyn dolnych i z niekiedy współistniejącym nadciśnieniem. W chorobach tych dochodzi do uszkodzenia śródbłonna naczyniowego i niedoboru NO. Sławiński i wsp. (36) podawali chlorowodorek L-argininy dożylnie w dawce 12,4 g przez 3 godziny w ciągu 7 dni pacjentom z miażdżyczą tętnic kończyn dolnych w stadium II a i II b według klasyfikacji Fontaine'a. Siedmiodniowa terapia L-argininą wywoływała kliniczną poprawę, manifestującą się wydłużeniem dystansu chromania przestankowego, skróceniem czasu trwania bólu po przebyciu maksymalnego odcinka drogi, zwiększonym przepływem krwi w obu podudziach (ocenianym na podstawie badania pletyzmograficznego), wzrostem wskaźnika ciśnieniowego w obu kończynach oraz wzrostem ciśnienia parcjalnego tlenu w niedokrwionej kończynie. Ponadto arginina hamowała samoistną agregację płytek krwi oraz agregację indukowaną kolage-

nem, uaktywniała układ fibrynolityczny (skracała czas lizy skrzepów euglobulinowych i hamowała aktywność inhibitora aktywatora plazminogenu) oraz powodowała wzrost stężenia cyklicznego GMP w plazmie. Są to pośrednie dowody na to, że egzogenna L-arginina może być substratem dla syntazy NO. Tygodniowa terapia L-argininą podawaną dożylnie była zbyt krótka, podjęto więc próbę jej kontynuowania, podając doustnie 3 razy dziennie 1 g L-argininy przez 3 tygodnie. Wynikiem tak prowadzonej terapii doustnej były: dalsza poprawa parametrów klinicznych, utrzymujące się zahamowanie agregacji płytek krwi oraz aktywacja układu fibrynolitycznego. Dobre efekty kliniczne doustnego zastosowania L-argininy przez 3 tygodnie u pacjentów z miażdżyczą tętnic kończyn dolnych uzyskali również Böger i wsp. (37). Wydłużył się u nich bezbólowy dystans marszu oraz poprawiła funkcja śródbłonna (wyrażona rozszerzeniem naczyń kończyn dolnych). W innych badaniach stwierdzono, iż podawanie L-argininy pacjentom z zaawansowaną miażdżyczą tętnic kończyn dolnych i krytycznym niedokrwieniem podudzi zwiększa przepływ krwi w tętnicy udowej oraz powoduje wzrost stężenia c-GMP i NO w moczu (38).

Fenomen Raynauda

L-argininę stosowano doustnie w dawce 4 g dwa razy dziennie przez miesiąc u pacjentów z chorobą lub zespołem Raynauda (39). Stwierdzono u nich silniejsze rozszerzenie naczyń w palcach kończyn górnych, zarówno po miejscowym ogrzaniu jak i oziębieniu, oraz wzrost poziomu tkankowego aktywatora plazminogenu. Freedman i wsp. (40), stosując L-argininę u pacjentów z fenomenem Raynauda i sklerodermią, uzyskali zniesienie spastycznych ataków skurczów naczyń kończyn. Wyniki te (w powiązaniu z wynikami badań nad rolą NO śródbłonna w regulacji krążenia) sugerują, że niedobór NO może być włączony w patogenęzę tych chorób oraz, że L-arginina – poprzez uwalnianie NO – przywraca prawidłową funkcję śródbłonna.

Hipercholesterolemia

Wkrótce po pierwszych doświadczeniach przeprowadzonych na zwierzętach, ujawniających korzystne działanie L-argininy na śródbłonek naczyniowy, wykazano, że podawanie dożylnie lub doustnie L-argininy poprawia funkcje śródbłonna w naczyniach obwodowych u młodych osób z hipercholesterolemią bez klinicznych objawów choroby (41, 42). U pacjentów z hiperlipidemią i bólami wieńcowymi infuzja L-argininy do naczyń wieńcowych koryguje odpowiedź tych naczyń na acetylocholinę (43). Odpowiedź ta wydaje się być uzależniona od wielu czynników, głównie – od morfologicznych zmian miażdżycowych występujących w tych naczyniach (44). Niezależnie jednak od zmiennych warunków miejscowych, podanie L-argininy poprawia funkcje śródbłonna u pacjentów z hipercholesterolemią (43) – dysfunkcją, która poprzedza pojawienie się widocznych zmian miażdżycowych w angiografii naczyń wieńcowych. Dość trudno jest wytłumaczyć mechanizm tego działania L-argininy. Wysuwa się hipotezę, że egzogenne podanie L-argininy hamuje efekt działania endogennego inhibitora NOS – asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA), której stężenie – jak wykazano – jest podwyższone u pacjentów z hiperlipidemią (45). W hiperlipidemii generacja wolnych rodników tlenowych jest zwiększona, co zmienia funkcjonalność NOS, a w efekcie – hamuje syntezę NO (46).

Choroba wieńcowa

Podstawą hipotezy, że tlenek azotu lub jego substrat L-arginina mają ścisły związek z patogenezą chorób serca i naczyń, jest obserwacja, że rozkurcz naczyń zależny od śródbłonna jest zmniejszony lub nie występuje wcale w miażdżycy, nadciśnieniu, hipercholesterolemii, chorobie wieńcowej. Ludmer i wsp. (47) opisali paradoksalny efekt działania acetylocholinę – efekt kurczenia naczyń łożyska wieńcowego u pacjentów z angiograficznie rozpoznaną chorobą wieńcową. Długotrwałe stosowanie L-argininy u tych chorych zmniejszało objawy bólowe

i poprawiało przepływ wieńcowy (48). U pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową doustne podanie L-argininy w dawce 6 g na dobę przez 3 dni powodowało zwiększenie tolerancji na wysiłek, co wynikało ze zmniejszonego zapotrzebowania mięśnia sercowego na tlen, uwarunkowanego rozszerzeniem naczyń i zwiększeniem przepływu wieńcowego (49). W elektrokardiogramie tych chorych zauważono normalizację odcinka ST. Podobne wyniki uzyskał Kobayashi i wsp. (50) po dożyłnej infuzji L-argininy u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową. Mechanizm korzystnego działania L-argininy u chorych z chorobą wieńcową wiąże się ściśle z aktywacją syntezy NO, zwiększeniem perfuzji w łożysku naczyń wieńcowych i obwodowych, zmniejszeniem stymulacji układu sympatycznego (51), a także zmniejszeniem stężenia naczyniowo-skurczowej endoteliny w osoczu tych chorych (48).

Niewydolność serca

Wyniki ostatnio przeprowadzonych badań nad efektami dożyłnej infuzji L-argininy u chorych z zastoinową niewydolnością serca ujawniły, iż powoduje ona rozszerzenie naczyń obwodowych, poprawia wyrzut serca i aktywuje produkcję tlenu azotu (52). Badania z podwójnie ślepą próbą nad doustnym zastosowaniem L-argininy u pacjentów z niewydolnością serca wykazały poprawę ich stanu klinicznego oraz funkcji śródbłonka, wyrażonej rozszerzeniem naczyń wieńcowych i obwodowych, a w konsekwencji – wzrostem tolerancji na wysiłek (53). Również odpowiedź naczyń wieńcowych na rozkurczowe działanie acetylcholine, podobnie jak wydolność wysiłkowa, uległy po dotętnicznej infuzji L-argininy istotnej poprawie (54).

Jaskra

Pierwsze doniesienia o obecności NO w gałce ocznej opublikował Neufeld i wsp. w 1997 r. (55). Autorzy ci wykazali ponadto obecność NOS-3 w śródbłonku naczyń tarczy nerwu wzrokowego. Enzym ten, jak się przypuszcza, może mieć istotne znaczenie w neuroprotekcji, gdyż

poprzez zwiększenie syntezy NO może powodować rozszerzenie naczyń i zwiększać przepływ krwi w tkankach. Ten rozszerzający efekt działania NO na naczynia tarczy nerwu II udowodniono w badaniach przeprowadzonych na zwierzętach (56). Również u chorych na jaskrę stwierdzono obecność NOS-3 w śródbłonku dużych i małych naczyń (55), przy równoczesnym zmniejszeniu prędkości przepływu krwi w tkance środkowej siatkówki, tkance ocznej i tkankach rzęskowych tylnych (57). Wpływ na ciśnienie wewnątrzgałkowe, którego wzrost jest głównym objawem jaskry, badali Kojima i wsp. (58), podając królikowi do ciała szklistego donor NO – SNAP. Zaobserwowali oni proporcjonalny do podanej dawki spadek ciśnienia śródbłonkowego. Wyniki tego doświadczenia stanowiły podstawę do podjęcia klinicznych prób wprowadzenia L-argininy do terapii chorych cierpiących na jaskrę. Wyniki badań pilotażowych okazały się bardzo obiecujące. Skłoniło to klinicystów z Krakowskiej Kliniki Okulistycznej CM UJ do rozpoczęcia w ramach podwójnie ślepej próby podawania L-argininy u 60 chorych z jaskrą pierwotną otwartego kąta przesączania i jaskrą z normalnym ciśnieniem śródgałkowym przez dwa lata.

Podsumowanie

Dysfunkcja śródbłonka naczyniowego występująca w wielu schorzeniach (miażdżycy, hipercholesterolemii, nadciśnieniu tętniczym, cukrzycy) charakteryzuje się upośledzeniem wydzielania ochronnych mediatorów śródbłonkowych, do których należy – rozpoznany w latach 80. ubiegłego wieku – śródbłonkowy czynnik rozszerzający naczynia (EDRF), utożsamiany obecnie z molekułą tlenu azotu (NO). Odkryto również, że jedynym jego substratem u człowieka jest znany aminokwas – L-arginina. Stopniowo ujawniono wiele funkcji, jakie pełni NO – zarówno w fizjologii, jak i patologii ustroju. Obecnie, gdy napotyka się schorzenie, w którym występuje niedobór tego mediatora śródbłonkowego, prowadzi się kliniczne próby podawa-

nia jego substratu – L-argininy, oceniając skuteczność takiej terapii. W ten właśnie sposób rozszerza się krąg zastosowań klinicznych argininy – krąg, który obejmuje coraz więcej schorzeń. Może być ona stosowana zarówno w ich terapii, jak i w profilaktyce.

Potencjalne kierunki klinicznego zastosowania L-argininy:

- nadciśnienie tętnicze samoistne,
- nadciśnienie indukowane ciążą,
- nadciśnienie płucne,
- miażdżycy tętnic kończyn dolnych,
- fenomen Raynauda,
- hipercholesterolemia,
- stabilna choroba niedokrwienna serca,
- niewydolność krążenia,
- jaskra,
- cukrzyca,
- przewlekła niewydolność nerek,
- prewencja restenozy po przeszłach naczyń wieńcowych,
- po angioplastyce przezskórnej PTCA,
- prewencja udarów mózgu i zakrzepowych incydentów naczyniowych.

Red. Arginina dostępna w Polsce produkowana jest przez firmę Curtis Healthcare.

Piśmiennictwo

1. Hedin S. G.: Eine methode das lysin zu isolieren, nebst einigen Bemerkungen über das lysatinin. Z. Physiol. Chem. 1895, 21, 297–305.
2. Krebs H. A., Henseleit H.: Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. Z. Physiol. Chem. 1932, 210, 33–66.
3. Thomas T., Thomas T. J.: Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications. Cell. Mol. Life Sci. 2001, 58 (2), 244–258.
4. Palmer R. M., Ashton D. S., Moncada S.: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 1988, 333 (6174), 664–666.
5. Furchgott R. F., Zawadzki J. V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 1980, 288 (5789), 373–376.
6. Moncada S., Higgs A.: The L-arginine – nitric oxide pathway. N. Engl. J. Med. 1993, 329 (27), 2002–2012.
7. Moncada S., Palmer R. M., Higgs E. A.: Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol. Rev. 1991, 43 (2), 109–142.

8. Gryglewski R. J.: Nitric oxide in atherosclerosis. *Thromb. Haemorrh. Disorders*, 1990, 2, 1–9.
9. Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M.: Biosynthesis of nitric oxide and its control. W: *Pharmacology* (Third Ed.), Churchill Livingstone 2000, 203–213.
10. Giaid A., Saleh D.: Reduced expression of endothelial nitric oxide synthase in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1995, 333 (4), 214–221.
11. Elliott T. G., Cockcroft J. R., Groop P. H. i wsp.: Inhibition of nitric oxide synthesis in forearm vasculature of insulin-dependent diabetic patients: blunted vasoconstriction in patients with microalbuminuria. *Clin. Sci. (London)* 1993, 85 (6), 687–693.
12. Vallance P., Leone A., Calver A. i wsp.: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992, 339 (8793), 572–575.
13. Harima A., Shimizu H., Takagi H.: Analgesic effect of L-arginine in patients with persistent pain. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 1991, 1 (4), 529–533.
14. Ignarro L. J.: Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1990, 30, 535–560.
15. Panza J. A., Casino P. R., Badar D. M. i wsp.: Effect of increased availability of endothelium-derived nitric oxide precursor on endothelium-dependent vascular relaxation in normal subjects and in patients with essential hypertension. *Circulation* 1993, 87 (5), 1475–1481.
16. Vallance P., Collier J., Moncada S.: Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989, 2 (8670), 997–1000.
17. Sakuma J., Shudo H., Togashi J. i wsp.: A new model of ischemic cardiomyopathy in the rat by inhibition of nitric oxide synthase. *J. Enthal. Cell. Res.* 1993, Suppl. 1, Abstract, 253.
18. Calver A., Collier J., Leone A. i wsp.: Effects of local intra-arterial asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the forearm arteriolar bed of healthy volunteers. *J. Hum. Hypertens.* 1993, 7 (2), 193–194.
19. Nakazono K., Watanabe N., Matsuno K. i wsp.: Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991, 88 (22), 1045–1048.
20. Fitzgerald D. J., Rocki W., Murray R. i wsp.: Thromboxane A₂ synthesis in pregnancy-induced hypertension. *Lancet* 1990, 335 (8692), 751–754.
21. Lazarchick J., Stubbs T. M., Romein L. i wsp.: Predictive value of fibronectin levels in normotensive gravid women destined to become preeclamptic. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1986, 154 (5), 1050–1052.
22. Molnar M., Suto T., Toth T. i wsp.: Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994, 170 (5 Pt 1), 1458–1466.
23. Yallampalli C., Izumi H., Byam-Smith M. i wsp.: An L-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate system exists in the uterus and inhibits contractility during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994, 170 (1 Pt 1), 175–185.
24. Kovacs A. G., Makary A., Peto J. i wsp.: Deficiency of c-GMP level in placental circulation in pregnancy induced hypertensive disorders: possibility of decreased endothelium derived relaxing factor. *Hypertens. Pregnancy* 1994, 13, 163–170.
25. Faxen M., Nisell H., Kublickiene K. R.: Altered mRNA expression of eNOS and iNOS in myometrium and placenta from women with preeclampsia. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2001, 265 (1), 45–50.
26. Sengoku K., Takuma N., Horikawa M. i wsp.: Requirement of nitric oxide for murine oocyte maturation, embryo development, and trophoblast outgrowth in vitro. *Mol. Reprod. Dev.* 2001, 58 (3), 262–268.
27. Rytlewski K., Olszanecki R., Zdebski Z.: Badania kliniczne nad znaczeniem egzogennej L-argininy w przebiegu ciąży. W: Z. Zdebski, R. Lauterbach, K. Rytlewski, J. Tomaszczyk (red.): *Probl. Perinat. Klin.*, Wydawnictwo Studio PIN, Kraków 2001, 308–323.
28. Zdebski Z., Gryglewski R. J., Rytlewski K. i wsp.: L-arginine in pregnancy complicated by hypertension – A preliminary report. *Int. Drug Develop. Clin. Pract.* 1996, 7, 327–330.
29. Facchinetti F., Longo M., Piccinini F. i wsp.: L-arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitric oxide release. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 1999, 6 (4), 202–207.
30. Rytlewski K., Zdebski Z.: Cięża a tlenek azotu – wybrane zagadnienia ogólne. *Medipress Ginekologia* 1997, III wyd., 2–5.
31. Barnes P. J., Belvisi M. G.: Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993, 48 (10), 1034–1043.
32. Adatia I., Thompson J., Landzberg M. i wsp.: Inhaled nitric oxide in chronic obstructive lung disease. *Lancet* 1993, 341 (8840), 307–308.
33. Dollberg S., Warner B. W., Myatt L.: Urinary nitrite and nitrate concentrations in patients with idiopathic persistent pulmonary hypertension of the newborn and effect of extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatr. Res.* 1995, 37 (1), 31–34.
34. Davidson D., Barefield E. S., Kattwinkel J. i wsp.: Inhaled nitric oxide for the early treatment of persistent pulmonary hypertension of the term newborn: a randomized, double-masked placebo-controlled dose-response, multicenter study. The I-NO/PPHN Study Group. *Pediatrics* 1998, 101 (3 Pt 1), 325–334.
35. Clark R. H., Rueser T. J., Walker M. W. i wsp.: Low-dose nitric oxide therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Clinical Inhaled Nitric Oxide Research Group. N. Engl. J. Med.* 2000, 342 (7), 469–474.
36. Sławiński M., Grodzińska L., Kostka-Trąbka E. i wsp.: L-arginine – substrate for NO synthesis – its beneficial effects in therapy of patients with peripheral arterial disease: comparison with placebo – preliminary results. *Acta Physiol. Hung.* 1996, 84 (4), 457–458.
37. Böger R. H., Bode-Böger S. M., Thiele W. i wsp.: Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998, 32 (5), 1336–1344.
38. Bode-Böger S. M., Böger R. H., Alfke H. i wsp.: L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. A randomized, controlled study. *Circulation* 1996, 93 (1), 85–90.
39. Agostoni A., Marasini B., Biondi M. L. i wsp.: L-arginine therapy in Raynaud's phenomenon? *Int. J. Clin. Lab. Res.* 1991, 21 (2), 202–203.
40. Freedman R. R., Girgis R., Mayes M. D.: Acute effect of nitric oxide on Raynaud's phenomenon in scleroderma. *Lancet* 1999, 354 (9180), 739.
41. Clarkson P., Adams M. R., Powe A. J. i wsp.: Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J. Clin. Invest.* 1996, 97 (8), 1989–1994.
42. Creager M. A., Gallagher S. J., Gierd X. J. i wsp.: L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.* 1992, 90 (4), 1248–1253.
43. Drexler H., Zeiher A. M., Meinzer K. i wsp.: Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991, 338 (8782–8783), 1546–1550.
44. Zeiher A. M., Drexler H., Wollschlaeger H. i wsp.: Modulation of coronary vasomotor tone in humans. Progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991, 83 (2), 391–401.
45. Böger R. H., Bode-Böger S. M., Szuba A. i wsp.: Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998, 98 (18), 1842–1847.
46. Pritchard K. A. Jr., Groszek L., Smalley D. M. i wsp.: Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ. Res.* 1995, 77 (3), 510–518.

47. Ludmer P. L., Selwyn A. P., Shook T. L. i wsp.: Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 1986, 315 (17), 1046–1051.
48. Lerman A., Burnett J. C. Jr., Higano S. T. i wsp.: Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation* 1998, 97 (21), 2123–2128.
49. Ceremużyński L., Chamiec T., Herbaczyńska-Cedro K.: Effect of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* 1997, 80 (3), 331–333.
50. Kobayashi N., Nakamura M., Hiramori K.: Effects of infusion of L-arginine on exercise-induced myocardial ischemic ST-segment changes and capacity to exercise of patients with stable angina pectoris. *Coron. Artery Dis.* 1999, 10 (5), 321–326.
51. Zanzinger J., Czachurski J., Seller H.: Inhibition of sympathetic vasoconstriction is a major principle of vasodilation by nitric oxide *in vivo*. *Circ. Res.* 1994, 75 (6), 1073–1077.
52. Koifman B., Wollman Y., Bogomolny N. i wsp.: Improvement of cardiac performance by intravenous infusion of L-arginine in patients with moderate congestive heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1995, 26 (5), 1251–1256.
53. Rector T. S., Bank A. J., Mullen K. A. i wsp.: Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. *Circulation* 1996, 93 (12), 2135–2141.
54. Kubota T., Imaizumi T., Oyama J. i wsp.: L-arginine increases exercise-induced vasodilation of the forearm in patients with heart failure. *Jpn. Circ. J.* 1997, 61 (6), 471–480.
55. Neufeld A. H., Hernandez M. R., Gonzalez M.: Nitric oxide synthase in the human glaucomatous optic nerve head. *Arch. Ophthalmol.* 1997, 115 (4), 497–503.
56. Buerk D. G., Riva C. E., Cranstoun S. D.: Nitric oxide has a vasodilatory role in cat optic nerve head during flicker stimuli. *Microvasc. Res.* 1996, 52 (1), 13–26.
57. Buckley C. H., Hadoke P. W., O'Brien C. J.: Use of isolated ocular arteries *in vitro* to define the pathology of vascular changes in glaucoma. *Br. J. Ophthalmol.* 1997, 81 (7), 599–607.
58. Kojima S., Sugiyama T., Shimizu K. i wsp.: [Effect of a nitric oxide donor on intraocular pressure] (Japanese) *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1996, 100 (3), 181–186.

Prof. dr hab. Elżbieta Kostka-Trąbka
Katedra Farmakologii Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Badania nad skutecznością suplementacji L-argininy u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych

Paweł Chęciński

Podstawowe znaczenie w rozwoju dysfunkcji śródbłonna, niezależnie od jej przyczyny, ma utrata biologicznie czynnego śródbłonkowego tlenku azotu (NO). Dwoma podstawowymi mechanizmami utraty biologicznej aktywności NO jest jego zmniejszona synteza i nasilona inaktywacja oksydacyjna przez reaktywne pośredniki tlenowe (1). Wytwarzane są one obficie w przypadkach chorób naczyń, którym towarzyszy dysfunkcja śródbłonna. Ograniczenie wytwarzania reaktywnych form tlenku ogranicza tlenową inaktywację NO. Z tego powodu w leczeniu miażdżycopochodnej zakrzepicy oraz hipercholesterolemii podejmuje się próby leczenia przeciwutleniaczami. Także leczenie zmniejszającymi stężenie cholesterolu inhibitorami reduktazy HMG-CoA poprawia czynność śródbłonna, między innymi przez ograniczenie dostępności reaktywnych form tlenku (2).

Alternatywnym sposobem zwiększenia ilości biologicznie czynnego NO i poprawy czynności śródbłonna jest wzmożenie syntezy NO. Można ją nasilić przez zwiększenie dostępności agonistów pobudzających uwalnianie NO do komórek śródbłonna lub przez dostarczenie substratu względnie kofaktorów enzymu, syntazy NO. Przez zwiększenie dostępności endogennego agonisty uwalniania NO ze śródbłonna, to jest – bradykininy, działają na przykład szeroko stosowane ACEI (3).

Innym sposobem zwiększenia syntezy NO jest dostarczenie dodat-

kowych ilości substratu, L-argininy dla swoistej dla śródbłonna izoformy syntazy NO – eNOS (1).

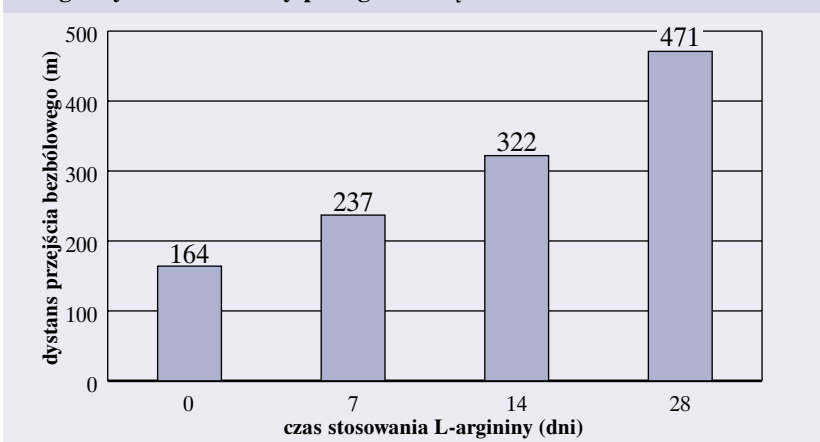
W ostatnich latach wykazano, że cykl mocznikowy nie jest jedynym możliwym szlakiem przemian L-argininy w organizmie. W tkankach nie wytwarzających mocznika arginina – przy udziale tlenu i syntazy NO – przechodzi wprost w cytrulinę (z pominięciem ornityny). W reakcji tej wytwarza się wolny rodnik tlenku azotu. Odkrycie nowego szlaku metabolicznego L-argininy sugeruje, że dodatkowe dostarczenie substratu osobom z niedoborem NO jest racjonalną metodą zwiększenia wytwarzania NO przez śródbłonek. W ostatnich latach wykazano, że takie postępowanie lecznicze może przynieść sukcesy u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych.

W Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń przy współpracy z Zakładem Farmakologii Klinicznej i Katedry Fizjologii Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wykonano badanie wpływu doustnej suplementacji L-argininy na dystans przejścia bez bólu chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stadium według Fontaine'a. Zbadano również stężenie tlenku azotu w surowicy krwi oraz parametry całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza (TAS – Total Antioxidant Status), stężenie dysmutazy nadtlenkowej (SOD) i katalazy (KAT) w krwinkach czerwonych.

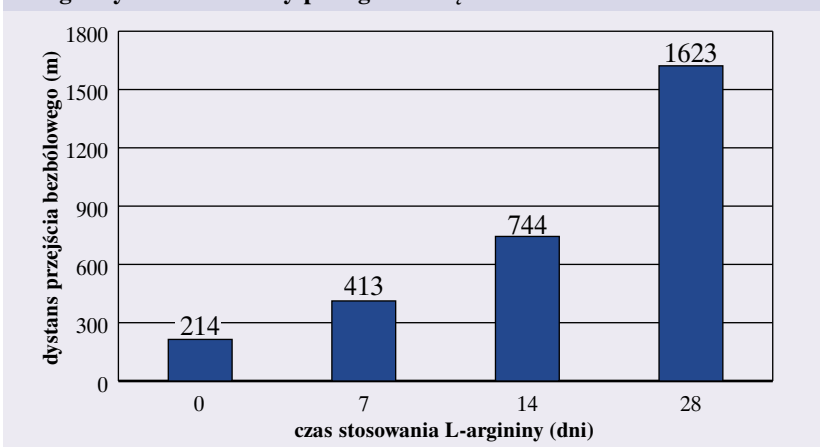
Obserwacja kliniczna i badania biochemiczne były przeprowadzane w okresie 28-dniowego podawania L-argininy (w dobie 0., 7., 14. i 28.). Chorych podzielono losowo na dwie grupy (A – 14 pacjentów i B – 16 pacjentów). Lek był podawany 3 razy na dobę (po 2 g w grupie A i po 4 g w grupie B). Porównano skuteczność jednej i drugiej dawki. U wszystkich badanych po 28-dniowym leczeniu L-argininą wystąpiła poprawa subiektywna. Dystans przejścia bezbólowego (wykres 1.) w grupie pacjentów, którym podawano L-argininę w dawce 3 razy po 2 g na dobę, wyjściowo wynosił $164,44 \pm 45,31$ m, po 7 dniach podawania L-argininy wydłużył się do $237,22 \pm 74,80$ m ($p < 0,021$), po 14 dniach – do $322,22 \pm 84,98$ m ($p < 0,0038$), a po 28 dniach – do $471,11 \pm 169,66$ m ($p < 0,0010$). W grupie chorych przyjmujących L-argininę w dawce 3 razy po 4 g na dobę dystans przejścia bezbólowego (wykres 2.) wyjściowo wynosił $214,29 \pm 96,76$ m. Po 7 dniach podawania L-argininy wydłużył się do $412,86 \pm 223,96$ m ($p < 0,018$), po 14 dniach – do $744,29 \pm 439,01$ m ($p < 0,012$), a po 28 dniach – do $1622,86 \pm 899,36$ m ($p < 0,0042$). Porównanie efektywności stosowania niższej i wyższej dawki L-argininy (wykres 3.) wykazało znamienne większe wydłużenie dystansu przejścia bezbólowego po 7 dniach ($p < 0,043$), po 14 dniach ($p < 0,013$) i po 28 dniach ($p < 0,001$) stosowania leku w grupie pacjentów przyjmujących wyższą dawkę L-argininy. Nie stwierdzono istotnej różnicy w wyjściowych dystansach przejścia bezbólowego u pacjentów z obu grup badanych. Nie odnotowano też żadnych działań niepożądanych stosowania L-argininy.

W grupie chorych otrzymujących 4 g L-argininy 3 razy na dobę zaobserwowano nieistotny statystycznie wzrost stężenia NO w surowicy krwi po 3 godzinach, 7 i 14 dniach leczenia L-argininą oraz znamienne wzrost stężenia NO po 28 dniach leczenia ($p < 0,01$) (wykres 4.). Odnotowano także istotne podwyższenie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza po 3 godzinach ($p < 0,01$) oraz po 7, 14 i 28 dniach ($p < 0,01$) trwania terapii w porównaniu z TAS przed rozpoczęciem leczenia (wykres 5.). Stwierdzono

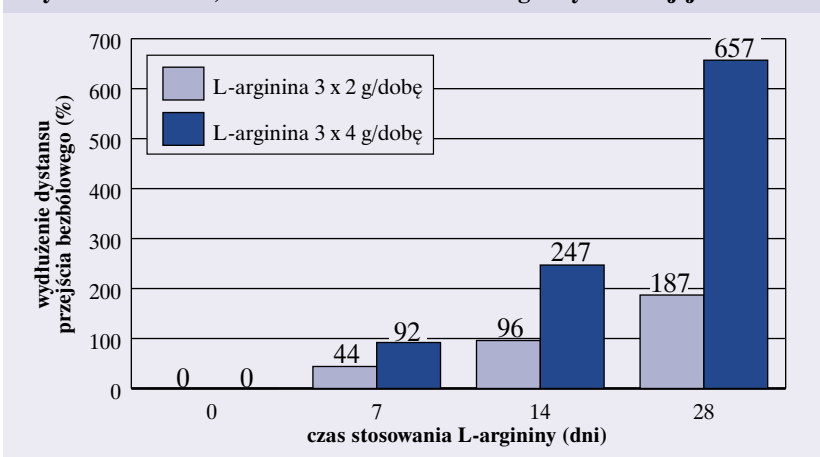
Wykres 1. Dystans przejścia bezbólowego w zależności od czasu stosowania L-argininy w dawce 3 razy po 2 g na dobę



Wykres 2. Dystans przejścia bezbólowego w zależności od czasu stosowania L-argininy w dawce 3 razy po 4 g na dobę



Wykres 3. Wydłużenie dystansu przejścia bezbólowego (wyrażone w %, 100% – dystans w dniu 0.) w zależności od dawki L-argininy i czasu jej stosowania



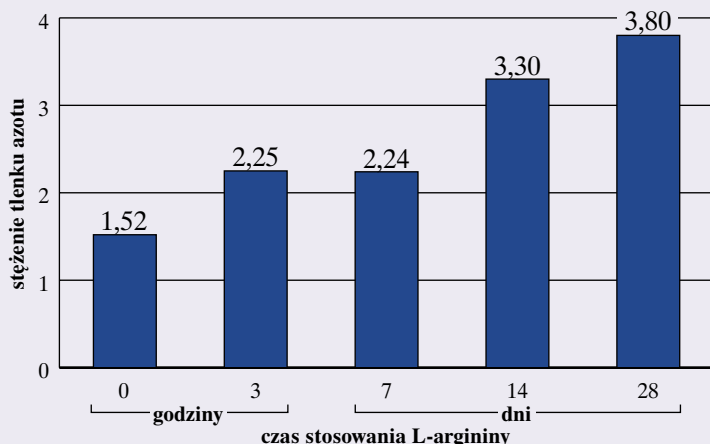
ponadto wzrost stężenia katalazy w krwinkach czerwonych po 14 dniach stosowania L-argininy ($p < 0,05$).

Na początku lat 90. ubiegłego wieku wykazano, że zastosowanie suplementacji L-argininy u osób z hipercholesterolemią nasila reaktywne rozszerzenie naczyń przedramienia

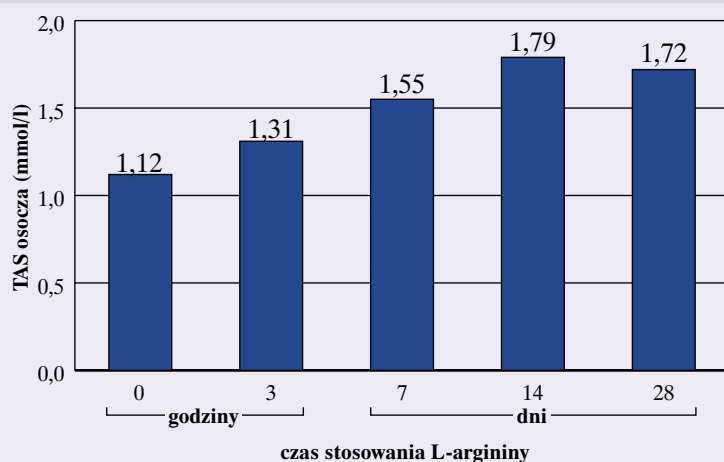
za pośrednictwem śródbłonkowego NO (4). Wykazano również, że dożylne podawanie L-argininy zwiększa działanie rozszerzające naczynia śródbłonka w zmienionych miażdżycowo tętnicach wieńcowych (5).

Od tego czasu w wielu badaniach potwierdzono, że zarówno jednoraz-

Wykres 4. Stężenie tlenu azotu w surowicy krwi w zależności od czasu stosowania L-argininy w dawce 3 razy po 4 g na dobę



Wykres 5. Całkowity potencjał antyoksydacyjny (TAS) osocza w zależności od czasu stosowania L-argininy w dawce 3 razy po 4 g na dobę



zowe podanie L-argininy, jak i jej długotrwałe stosowanie doustne, poprawia czynność naczyń u chorych z hipercholesterolemią, ze stabilną dusznicą bolesną oraz u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych (6, 7). U chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych obserwowano zadawalającą skuteczność zarówno doustnego, jak i doustnego leczenia L-argininą w postaci ustąpienia lub złagodzenia objawów podmiotowych w niedokrwionych kończynach dolnych, wydłużenia dystansu przejścia bezbólowego, poprawy mikrokrążenia, hamowania agregacji płytek krwi i wzrostu aktywności układu fibrynolitycznego (5). W prezentowanym badaniu podjęto próbę określenia wpływu 28-dniowej suplementacji L-argininy na chromanie przestankowe oraz stężenie NO w surowicy krwi, parametry całkowi-

tego potencjału antyoksydacyjnego osocza (TAS) i stężenie enzymów antyoksydacyjnych (KAT, SOD) w krwinkach czerwonych u chorych z rozpoznaną miażdżycą tętnic kończyn dolnych II stopnia według Fontaine'a. Stwierdzono, że niezależnie od dawki L-argininy dochodzi do wydłużenia dystansu przejścia bez chromania przestankowego. Stosowanie większej dawki powoduje lepszy efekt kliniczny w postaci znaczącego wydłużenia dystansu przejścia bez bólu. Stwierdzono ponadto, że suplementacja L-argininy powoduje, niezależnie od dawki, zwiększenie stężenia NO i TAS oraz stężenia KAT, głównie w początkowym okresie terapii.

Sądzi się, że L-arginina wywołuje wyżej wymienione korzystne działania nie tylko poprzez dostarczenie substratu dla e-NOS, zwiększając w ten sposób syntezę NO, lecz także

poprzez pośrednie działanie antyoksydacyjne, wyrażające się zmniejszeniem uwalniania anionu nadtlenkowego ze śródbłonka (5).

Jak dotąd, dokładny mechanizm poprawy czynności śródbłonka przez L-argininę pozostaje nieznany, dlatego bierze się pod uwagę szereg mechanizmów bezpośrednich i pośrednich, które mogłyby być odpowiedzialne za korzystne efekty działania tego aminokwasu jako leku.

Piśmiennictwo

- Bogdański P., Pupek-Musialik D., Jabłeczka A. i wsp.: Suplementacja L-argininy w nadciśnieniu tętniczym – fakty i kontrowersje. *Nadciśnienie Tętnicze* 2001, 5 (2), 133–139.
- Yamamoto A., Hoshi K., Ichihara K.: Fluvastatin, an inhibitor of 3-hydroksy-3-methylglutaryl-CoA reductase, scavenges free radicals and inhibits lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 361 (1), 143–149.
- Mombouli J. V.: ACE inhibition, endothelial function and coronary artery lesions. Role of kinins and nitric oxide. *Drugs* 1997, 54 (Suppl. 5), 12–22.
- Creager M. A., Gallagher S. M., Girerd X. J. i wsp.: L-Arginine improves endothelium – dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.* 1992, 90 (4), 1248–1253.
- Dubois-Rande J. L., Zelinsky R., Roudot F. i wsp.: Effects of infusion of L-arginine into the left anterior descending coronary artery on acetylcholine-induced vasoconstriction of human atheromatous coronary arteries. *Am. J. Cardiol.* 1992, 70 (15), 1269–1275.
- Ceremużyński L., Chamiec T., Herbaczyńska-Cedro K.: Effect of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* 1997, 80 (3), 331–333.
- Grodzińska L., Kostka-Trąbka E., Sławiński M. i wsp.: Próba zastosowania L-Argininy u pacjentów z miażdżycą tętnic kończyn dolnych. *Probl. Terapii Monit.* 1993, 4 (4), 201–202.
- Boger R. H., Bode-Boger S. M., Muggé A. i wsp.: Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis* 1995, 117 (2), 273–284.

Doc. dr hab. med. Paweł Chęciński
Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyń,
II Katedra Chirurgii
Akademii Medycznej
im. K. Marcinkowskiego
w Poznaniu

Suplementacja L-argininy w chorobach układu sercowo-naczyniowego

Anna Jabłecka

W 1980 roku Furchgott i Zawadzki udowodnili, że relaksacja mięśni gładkich naczyń w odpowiedzi na acetylocholinę jest zależna od anatomicznej integralności śródbłonna (1). Wkrótce wykazano, że relaksacja ta jest zależna od labilnego czynnika obecnego w śródbłonku naczyniowym nazywanego EDRF (Endothelial Derived Relaxing Factor) i zidentyfikowanego przez zespół dr. S. Moncady jako tlenek azotu (NO) (2). W latach 80. ubiegłego wieku próbowano wykazać, że podstawowym źródłem NO są endogenne azotany, azotyny a nawet – hydroksylamina. Kluczowe znaczenie miały wówczas badania Palmera i wsp., w których wykazano, że NO powstaje w procesie przemiany endogennej L-argininy (3).

Odkrycie nowego szlaku metabolicznego arginina–NO stało się podstawą dla wysunięcia tezy, że dodatkowe dostarczenie substratu (L-argininy) osobom z niedoborem NO może stać się racjonalną metodą zwiększania wytwarzania NO przez śródbłonek naczyniowy. Zapoczątkowało to wiele badań nad zastosowaniem L-argininy w leczeniu chorób związanych z niedoborem NO, takich jak nadciśnienie tętnicze (4, 5), choroba wieńcowa (6), nadciśnienie płucne (7) i miażdżyca (8, 9). Wyniki większości z tych prac wykazały, że postępowanie lecznicze z zastosowaniem L-argininy daje korzyści kliniczne. W badaniach potwierdzono, że zarówno jednorazowe podanie L-argininy, jak i jej przewlekłe stosowanie doustne poprawiają czynność naczyń u pacjentów z hipercholesterolemią (10, 11), z chorobą małych naczyń (12) oraz w miejscach zwężenia tętnic wieńcowych (13).

Korzystne działanie zwiększonej podaży L-argininy zaobserwowano

także w chorobie nadciśnieniowej. Nie rozstrzygnięta pozostaje jednak kwestia określenia kolejności zdarzeń: czy nadciśnienie wtórnie indukuje zaburzenia przemiany L-arginina–NO, czy też zaburzenia przemiany L-arginina–NO inicjują rozwój nadciśnienia tętniczego? Większość eksperymentalnych doniesień sugeruje, że rozkurczowa funkcja endotelium jest upośledzona u chorych z podwyższonymi wartościami ciśnienia tętniczego, a stopień dysfunkcji progresywnie się zwiększa wraz ze wzrostem ciśnienia tętniczego (14). Nie określono jednak, czy zaburzona funkcja śródbłonna jest przyczyną czy konsekwencją nadciśnienia tętniczego (15). Zdaniem wielu badaczy, rozwój typowych dla nadciśnienia zmian strukturalnych serca i naczyń jest prawdopodobnie poprzedzony istotnymi zaburzeniami funkcji śródbłonna i zmniejszonym uwalnianiem NO (16, 17), przy czym udział niedoboru NO w patomechanizmie nadciśnienia tętniczego postuluje się u ludzi zwłaszcza w odniesieniu do nadciśnienia pierwotnego oraz niektórych tylko postaci nadciśnienia wtórnego (17, 18).

Jak dotąd badania nad podawaniem L-argininy jako substratu do syntezy NO u chorych z nadciśnieniem tętniczym są nieliczne. W podejmowanych próbach podawania tego aminokwasu – głównie dożylnie (i w różnych dawkach) – pacjentom z pierwotnym i wtórnym nadciśnieniem tętniczym, a także z nadciśnieniem płucnym, obserwowano obniżenie wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, przyspieszenie pracy serca oraz wzrost minutowego rzutu serca (19, 20, 21).

W Zakładzie Farmakologii Klinicznej Instytutu Kardiologii Aka-

demii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu prowadzone są badania oceniające wpływ 28-dniowej doustnej suplementacji dwóch różnych dawek L-argininy na wartości ciśnienia tętniczego oraz wybrane parametry biochemiczne u 30 chorych z pierwotnym łagodnym i umiarkowanym nadciśnieniem tętniczym. Oceniane są również stężenia cGMP w surowicy, tlenku azotu, endoteliny-1 (ET-1) oraz stężenie cytokiny TNF-alfa (czynnika martwicy nowotworów).

Wstępne wyniki tych badań są zachęcające. Zaobserwowano, iż efektem podawania L-argininy była tendencja do obniżania się skurczowego i rozkurczowego ciśnienia krwi, z silniej wyrażonym efektem hipotensyjnym dotyczącym ciśnienia rozkurczowego, wzrost stężenia NO oraz cGMP. Leczenie L-argininą nie wpływa natomiast na stężenie TNF-alfa w surowicy krwi (22).

W równoległe prowadzonych badaniach pilotażowych oceniających 14-dniowy wpływ doustnej suplementacji L-argininy (w dawce 6 g na dobę) u 22 chorych z przewlekłą niewydolnością serca (CHF) leczonych inhibitorem konwertazy angiotensyny, środkiem moczopędnym i digoksyną, wstępnie odnotowano wystąpienie poprawy klinicznej w postaci przesuńnięcia chorych do klas o lepszej wydolności fizycznej, zwiększenie frakcji wyrzutowej serca, wzrost stężenia NO i cGMP w surowicy krwi oraz obniżenie wielkości oporu obwodowego. Podobnie jak u chorych z nadciśnieniem tętniczym, leczenie L-argininą nie wpływało na stężenie TNF-alfa w surowicy krwi (23).

Piśmiennictwo:

1. Furchgott R. F., Zawadzki J. V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980, 288 (5789), 373–376.
2. Palmer R. M. J., Ferrige A. G., Moncada S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987, 327 (6122), 524–526.
3. Palmer R. M. J., Rees D. D., Ashton D. S. i wsp.: L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Bioch. Biophys. Res. Commun.* 1988, 153 (3), 1251–1256.

4. Forte P., Copland M., Smith L. M. i wsp.: Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet* 1997, 349 (9055), 837–842.
5. Benjamin N., Vane J.: Nitric oxide and hypertension. *Circulation* 1996, 94 (6), 1197–1198.
6. Lerman A., Burnett J. C. Jr., Higano S. T. i wsp.: Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation* 1998, 97 (21), 2123–2128.
7. Mehta S., Stewart D. J., Langleben D. i wsp.: Short-term pulmonary vasodilation with L-arginine in pulmonary hypertension. *Circulation* 1995, 92 (6), 1539–1545.
8. Imaizumi T., Hirooka Y., Masaki H. i wsp.: Effects of L-arginine forearm vessels and responses to acetylcholine. *Hypertension* 1992, 20 (4), 511–517.
9. Casino P. R., Kilcoyne C. M., Quyyumi A. A. i wsp.: Investigation of decreased availability of nitric oxide precursor as the mechanism responsible for impaired endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1994, 23 (4), 844–850.
10. Clarkson P., Adams M. R., Powe A. J. i wsp.: Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J. Clin. Invest.* 1996, 97 (8), 1989–1994.
11. Bode-Bäger S. M., Bäger R. H., Alfke H. i wsp.: L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. A randomized, controlled study. *Circulation* 1996, 93 (1), 85–90.
12. Drexler H., Zeiher A. M., Meinzer K. i wsp.: Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991, 338 (8782–8783), 1546–1550.
13. Tousoulis D., Davies G. J., Tentolouris C. i wsp.: Coronary stenosis dilatation induced by L-arginine. *Lancet* 1997, 349 (9063), 1812–1813.
14. Dohi Y., Thiel M. A., Buhler F. R. i wsp.: Activation of endothelial L-arginine pathway in resistance arteries: effects of age and hypertension. *Hypertension* 1990, 16 (2), 170–179.
15. Bogdański P., Pupek-Musialik D., Jabłeczka A. i wsp.: Suplementacja L-argininy w nadciśnieniu tętniczym – fakty i kontrowersje. *Nadciśnienie tętnicze* 2001, 5 (2), 133–139.
16. Gibbons G. H., Dzau V. J.: The emerging concept of vascular remodeling. *New Engl. J. Med.* 1994, 330 (20), 1431–1438.
17. Sanders P. W.: Role of nitric oxide in regulation of blood pressure. *J. Nephrol.* 1992, 5, 23–30.
18. Antony I., Lerebours G., Nitenberg A.: Loss of flow-dependent coronary artery dilatation in patients with hypertension. *Circulation* 1995, 91 (6), 1624–1628.
19. Nakaki T., Hishikawa K., Suzuki H. i wsp.: L-arginine-induced hypotension. *Lancet* 1990, 336 (8716), 696.
20. Nakaki T., Kato R.: Beneficial circulatory effect of L-arginine. *Jpn. J. Pharmacol.* 1994, 66 (2), 167–171.
21. Czarnecka D., Malczewska-Malec M., Dembińska-Kieć A. i wsp.: Blood pressure profile and variability in hypertensives treated with L-arginine infusion. *Blood Press. Monit.* 1998, 3 (2), 91–96.
22. Bogdański P., Chyrek R., Jabłeczka A. i wsp.: Does oral L-arginine supplementation influence on serum tumor necrosis factor level in obese patients with hypertension? *J. Hypertens.* 2002, Vol. 20 (Suppl. 4), RO36.
23. Jabłeczka A., Chyrek R., Bogdański P. i wsp.: Stężenie czynnika martwicy nowotworów (TNF-alfa) u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca suplementowanych L-Argininą. *Pol. Arch. Med. Wewn. (abstr.)* 2001, CV (96), II-6-R.

*Doc. dr hab. med. Anna Jabłeczka
Zakład Farmakologii Klinicznej
Instytutu Kardiologii Akademii Medycznej
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu*