

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

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]. Wysłunięto 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 egzogenicznie 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 syntetazy 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 syntetazy 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 syntetazy 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.