

DOROTA ŚCIBIOR, HANNA CZECZOT

## Arginina – metabolizm i funkcje w układzie sercowo-naczyniowym

### Arginine – Metabolism and Functions in Cardiovascular System

Katedra i Zakład Biochemii AM w Warszawie

#### Streszczenie

L-arginina to aminokwas spełniający wiele funkcji w organizmie człowieka. Jest prekursorem w syntezie związków o ważnym znaczeniu w przemianach biochemicznych, tj. tlenku azotu, ornityny, poliamin, agmatyny, proliny, glutaminianu, kreatyny, dimetyloargininy, mocznika. Szczególną rolę L-arginina odgrywa w układzie krwionośnym, gdzie jest źródłem endogennego tlenku azotu, który odpowiada za rozszerzanie naczyń krwionośnych. Dzięki relaksacji mięśni gładkich ścian naczyń krwionośnych bierze on również udział w regulacji napięcia ścian naczyń. Jego stała synteza w śródbłonku przeciwdziała rozwojowi nadciśnienia i innym schorzeniom układu naczyniowego. Zastosowanie L-argininy jako leku poprawia funkcje układu sercowo-naczyniowego (**Adv Clin Exp Med 2005, 14, 5, 1041–1050**).

**Słowa kluczowe:** L-arginina, metabolizm, tlenek azotu, funkcje w układzie sercowo-naczyniowym.

#### Abstract

L-Arginine has many functions in human organism. It is the precursor for the synthesis of molecules of great biological importance including nitric oxide, ornithine, polyamines, agmatine, proline, glutamate, creatine, dimethylarginine, urea. L-arginine plays a special role in vascular system, where it is a source of endogen nitric oxide, which is responsible for widening of blood vessels. Thanks to relaxation of vascular smooth muscles, it takes part in regulation of blood vessels tone. Its constant synthesis in endothelium prevents development of hypertension and other vascular system diseases. Treatment by arginine as a medicine improves functions of cardiovascular system (**Adv Clin Exp Med 2005, 14, 5, 1041–1050**).

**Key words:** L-arginine, metabolism, nitric oxide, functions in cardiovascular system.

L-Arginina (kwas 2-amino-5-guanidynowale-rianowy) to endogenny aminokwas powstający głównie w cyklu mocznikowym, który w organizmie jest wykorzystywany do syntezy białek, mocznika, kreatyny, proliny, poliamin (putrescyny, sperminy, spermidyny) i tlenku azotu. Niektóre z końcowych produktów metabolizmu L-argininy pełnią funkcje regulacyjne w komórkach organizmu. Takie działanie wykazuje tlenek azotu (NO) i glutaminian – prekursor w syntezie  $\gamma$ -aminomásłanu (GABA) [1–4].

Po raz pierwszy arginina została wyizolowana z kiełków łubinu w 1886 r., a kilka lat później (1895 r.) jej obecność stwierdzono również w tkankach zwierzęcych [5]. W latach 30. XX wieku rozpoczęły się badania mające na celu wyjaśnienie biochemicznych i fizjologicznych funk-

cji L-argininy. Wykazały, że odgrywa zasadniczą rolę w cyklu mocznikowym, który jest odpowiedzialny za usuwanie z organizmu toksycznego amoniaku. Stwierdzono również, że L-arginina jest substratem w syntezie kreatyny i karnityny – wskaźnika czynności nerek [1, 3, 5].

W badaniach przeprowadzonych w latach 1950–1970 wykazano, że L-arginina u ludzi dorosłych jest aminokwasem syntetyzowanym endogennie, a w u młodych organizmów jest niezbędna do ich prawidłowego rozwoju i musi być dostarczana w diecie. Obecnie coraz częściej uważa się, że jest aminokwasem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu nie tylko dzieci, ale również osób dorosłych, szczególnie w przypadku stanów chorobowych (np. po resekcji jelita cienkiego, niewydolności nerek lub po urazach) [2, 4, 6].

W 1988 r. stwierdzono, że arginina jest prekursorem tlenku azotu (NO) działającego rozkurczowo na naczynia, który nazywano początkowo śródbłonkowym czynnikiem rozszerzającym naczynia (EDRF – *endothelial derived relaxing factor*). Odkrycie to i szczególne funkcje, jakie spełnia NO w układzie sercowo-naczyniowym spowodowały wzrost zainteresowania rolą L-argininy w fizjologii i patologii tego układu [7, 8].

Większość znanych skutków działania L-argininy w układzie sercowo-naczyniowym jest związana z jej przekształceniem z udziałem syntazy tlenku azotu do NO i cytruliny. NO jako endogenna cząsteczka sygnałowa działa na komórki śródbłonka naczyń krwionośnych, powodując określone efekty fizjologiczne. Wyniki wielu badań wskazują, że w przypadku chorób układu sercowo-naczyniowego, związanych ze zmniejszeniem ilości syntetyzowanego NO (np.: w chorobie nadciśnieniowej, wieńcowej, miażdżycy) suplementowanie arginina może prowadzić do poprawy działania tego układu. L-arginina wpływa na funkcjonowanie układu krążenia nie tylko jako prekursor NO. Jako aminokwas zasadowy może regulować pH wewnątrzkomórkowe oraz pH krwi i wpływać na polaryzację błon komórek śródbłonka. Posiada również właściwości antyoksydacyjne, a przez wpływ na syntezę angiotensyny II reguluje napięcie naczyń krwionośnych. L-arginina ma zdolność do aktywowania układu fibrynolitycznego i hamowania adhezji leukocytów [1, 2, 6, 7].

## Źródła argininy w organizmie

Głównymi źródłami argininy w organizmie jest: pokarm, wewnątrzkomórkowa degradacja białek oraz jej endogenna synteza. Arginina wchodzi w skład białek pokarmowych pochodzenia zwierzęcego i roślinnego. Szczególnie białka roślinne są bogate w ten aminokwas. Dorosły człowiek spożywa prawie 5,4 g argininy na dobę [4, 6]. Arginina zawarta w pokarmie jest uwalniana z białek w procesie trawienia i wchłaniana w jelicie cienkim. Głównym miejscem jej absorpcji jest jelito kręte i czcze. Dzięki dużej aktywności arginazy w jelicie cienkim około 40% argininy pochodzącej z pokarmu jest tutaj degradowane, a pozostała ilość trafia do żyły wrotnej. Nieobecność w hepatocytach układu transportującego  $y^+$  sprawia, że tylko 25% docierającej tu argininy jest pobierane przez wątrobę. Uważa się, że około 50% argininy pochodzącej z diety trafia do układu krążenia [4, 5]. 5–15% argininy w osoczu krwi dorosłego człowieka to arginina zsyntetyzowana endogennie z cytruliny. Całkowite jej stężenie w osoczu ludzi i zwierząt waha się

od 95–250  $\mu\text{mol/l}$  i zależy od etapu rozwojowego oraz stanu odżywiania organizmu [5, 6].

W komórkach śródbłonka głównym źródłem argininy do syntezy NO jest dieta. W przypadku niedostatecznej ilości w diecie dodatkowym źródłem, zapewniającym utrzymanie syntezy NO na odpowiednim poziomie, jest wewnątrzkomórkowa degradacja białek lub/i cykl arginina/cytrulina [6, 9].

W świetle badań homeostaza argininy w organizmie, w tym także w układzie krwionośnym, zależy od jej ilości w pożywieniu, transportu do komórek, obrotu białkowego i metabolizmu.

## Transport argininy

Techniki biologii molekularnej wykazały, że u ssaków arginina jest transportowana do wnętrza komórek przez obecne w błonie komórkowej bardzo specyficzne nośniki białkowe określane jako układ przenośników  $y^+$ ,  $b^{0+}$ ,  $B^{0+}$  lub  $y^+L$  [10, 11].

Komórki organizmu wykazują różną aktywność poszczególnych przenośników, których prawidłowe działanie zapewnia skuteczny wychwyt pozakomórkowej argininy. 70% argininy jest transportowane do wnętrza komórki za pośrednictwem układu  $y^+$ , a pozostałe 30% przez układy  $b^{0+}$ ,  $B^{0+}$  lub  $y^+L$  [10, 12]. W większości komórek organizmu występuje i funkcjonuje niewrażliwy na zmiany pH i niezależny od jonów  $\text{Na}^+$  układ  $y^+$ , odpowiedzialny za transport nie tylko argininy, ale również lizyny i ornityny [10, 12]. Działanie w komórkach organizmu przenośnika  $y^+$  jest możliwe dzięki istnieniu rodziny białek przenośnikowych CAT (CAT-1, CAT-2, CAT-3) kodowanych przez gen *SCL7A1-4* [13].

Transport argininy jest kompetycyjnie hamowany przez lizynę, ornitynę, kanawainę oraz niektóre inhibitory syntazy tlenku azotu (NOS – *nitric oxide synthase*), tj.  $\text{N}^G$ -monometylo-L-argininę i  $\text{N}^G$ -iminoetylo-L-ornitynę. Zastosowanie tych inhibitorów ogranicza dostępność argininy dla innych enzymów, które wykorzystują aminokwas jako substrat [5].

W badaniach *in vitro* i *in vivo* wykazano, że w różnych typach komórek ekspresji układu  $y^+$  towarzyszy również ekspresja indukowalnej syntazy tlenku azotu (iNOS – *inducible nitric oxide synthase*), co wskazuje, że transport argininy do tych komórek wzrasta w celu utrzymania na odpowiednim poziomie syntezy tlenku azotu. Dowodzi to, że indukowana przez różne czynniki synteza tego związku ściśle zależy od jednoczesnej indukcji układu  $y^+$  [3, 8, 14].

Komórkowe umiejscowienie przenośników argininy jest odpowiedzialne za tzw. paradoks ar-

gininowy. Wewnątrzkomórkowe stężenie argininy mieści się w granicach 1–2 mmol/l, a Km śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS – *endothelium nitric oxide synthase*) dla tego aminokwasu wynosi 2,9  $\mu$ mol/l. Mimo że stężenie wewnątrzkomórkowe L-argininy przewyższa znacznie wartość Km eNOS dla tego aminokwasu, synteza NO w komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych jest zależna od stężenia L-argininy pozakomórkowej. Zjawisko to, nazywane „paradoksem argininowym”, prawdopodobnie jest związane z lokalizacją przenośników argininy i eNOS. Wykazano bowiem, że białko nośnikowe CAT-1 występuje bardzo często na powierzchni błony łącznie z eNOS. Razem tworzą kompleks odpowiedzialny za dostarczanie substratu – L-argininy – dla eNOS [5, 11, 15]. Mechanizm bezpośredniego kierowania pozakomórkowej L-argininy do syntezy NO optymalizuje jego wytwarzanie w komórkach śródbłonka. Jest to również przykład mechanizmu, w którym substrat reguluje aktywność związanego z jego przemianą enzymu. Powyższe zjawisko – paradoksu argininowego – dotyczy reakcji katalizowanych nie tylko przez eNOS, ale również przez iNOS [4, 14].

## Przemiany argininy

Arginina ulega w komórkach organizmu licznym przemianom metabolicznym, przy czym w zależności od narządu lub tkanki określone drogi jej przemian zachodzą mniej lub bardziej intensywnie. W wątrobie arginina jest metabolizowana w cyklu mocznikowym do ornityny i mocznika. Z kolei dostępność ornityny decyduje o regulacji syntezy poliamin – związków, które są niezbędne do proliferacji i różnicowania komórek [1, 3, 4]. W mózgu, wątrobie, nerkach, nadnerczach i jelicie cienkim arginina z udziałem dekarboksylazy argininowej (ADC) jest przekształcana do agmatyny i CO<sub>2</sub>. Mimo że biologiczne funkcje agmatyny nie są do końca poznane, istnieje wiele badań wskazujących, że ten metabolit argininy jako ligand adrenergicznych i imidazolowych receptorów pełni ważne funkcje w sygnalizacji komórkowej. Zdolność agmatyny do hamowania dekarboksylazy ornitynowej (ODC) i izoenzymów NOS wzbudza duże zainteresowanie co do jej znaczenia w fizjologii i patologii [16, 17]. W nerkach i trzustce arginina jest substratem w syntezie guanidynoocetanu, który następnie w wątrobie jest przekształcany do kreatyny – jednego z głównych metabolitów argininy [1, 5]. Komórki śródbłonka naczyń krwionośnych i wiele innych typów komórek organizmu wykorzystuje argininę do syntezy cząsteczki NO, spełniając wiele istotnych funkcji

w podstawowych procesach życiowych organizmu człowieka. NO obniża napięcie naczyń krwionośnych, hamuje przyleganie, aktywację i agregację płytek krwi, uczestniczy w przewodzeniu nerwowym (jest neuroprzekaźnikiem w mózgu i obwodowym układzie autonomicznym), odpowiada immunologicznej i innych procesach (ryc. 1) [9, 18–20].

Wykazanie, że arginina jest prekursorem w syntezie komórkowych czynników sygnalizacyjnych, zmienia dotychczasową wiedzę na temat jej funkcji w organizmie. Obecnie wiadomo, że spełnia różne, ale bardzo istotne funkcje w fizjologii i metabolizmie [1, 6]. Szczególne zainteresowanie budzi jako prekursor tlenu azotu, ważnej cząsteczki sygnalizacyjnej, oraz agmatyny, która może regulować syntezę NO [19–22].

## Biosynteza tlenu azotu (NO)

Endogennie tlenek azotu jest syntetyzowany z L-argininy. Początkowo zdolność do syntezy NO wykazano w komórkach śródbłonka i w makrofagach. Dziś wiadomo, że wiele komórek organizmu wykorzystuje L-argininę do syntezy tlenu azotu, który spełnia wiele istotnych funkcji w podstawowych procesach życiowych organizmu człowieka [4, 20, 23].

Najważniejszym źródłem argininy dla syntezy NO w komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych jest pozakomórkowa arginina, obecna w osoczu. Stanowi ona 54% argininy wykorzystanej w syntezie NO, pozostała część prawdopodobnie pochodzi z endogennych źródeł, tj. degradacji białek i endogennej syntezy argininy w miejscach syntezy NO lub z wewnątrzkomórkowego cyklu przemian cytrulina/NO, nazywanego również cyklem arginina/cytrulina [5, 24].

Reakcja syntezy NO jest katalizowana przez syntazę tlenu azotu (NOS). W reakcji jest wymagana obecność argininy i O<sub>2</sub> jako substratów oraz kofaktorów, takich jak: NADPH, FAD, FMN, hem i tetrahydrobiopteryna (BH<sub>4</sub>) [18, 19, 23]. Mechanizm reakcji przekształcenia argininy w NO polega na utlenieniu z udziałem tlenu cząsteczkowego (O<sub>2</sub>) grupy iminowej reszty guanidynowej L-argininy. Reakcja zachodzi dwuetapowo. W pierwszym etapie arginina jest hydroksylowana z udziałem O<sub>2</sub> i NADPH do pośredniego, stabilnego intermediatu N- $\omega$ -hydroksy-L-argininy, który następnie w drugim etapie jest utleniany do cytruliny i NO. Syntezę NO w komórkach limituje dostępność wewnątrzkomórkowej argininy i kofaktorów reakcji [8, 19, 25].

NO może również powstawać w organizmie w wyniku redukcji azotynów i jest to droga syntezy niezależna od działania NOS. Dziennie, zdrowy

człowiek jest w stanie wytworzyć około 1 mmol endogennego tlenu azotu [8].

Synteza NO w komórkach organizmu jest determinowana na poziomie ekspresji NOS, przez regulację aktywności katalitycznej NOS oraz dostępność argininy i niezbędnych kofaktorów, np. tetrahydrobiopteryny [3, 9, 25].

## Syntazy tlenu azotu (NOS)

W ciągu kilku ostatnich lat poznano i opisano enzymy katalizujące reakcję, w której powstaje tlenek azotu. Ich obecność wykazano w wielu tkankach organizmu. Rodzina enzymów NOS jest najlepiej poznaną grupą enzymów uczestniczących w metabolizmie argininy. Intensywne badania pozwoliły ustalić ich strukturę i funkcje. Są dimerami o masie cząsteczkowej 125-155 kDa. Arginina jest nie tylko substratem NOS, ale również uczestniczy w powstawaniu dimerów NOS [3, 25].

Znane są trzy typy izoenzymów NOS kodowane przez różne geny: neuronalna NOS (nNOS, typ I NOS; ang. *neuronal NOS*), indukowalna (iNOS, typ II NOS; ang. *inducible NOS*) i śródbłonkowa (eNOS, typ III NOS; ang. *endothelial NOS*). Enzymy te różnią się masą cząsteczkową, lokalizacją w komórce i wymaganiami co do kofaktorów. Ich ekspresja podlega odmiennej regulacji [23, 25].

nNOS i eNOS są konstytutywnie wytwarzane tylko w niektórych komórkach organizmu (neurony, płytki, komórki śródbłonka naczyń, miocyty). iNOS jest natomiast enzymem indukowanym w większości komórek. Ulega ekspresji w wyniku działania endotoksyn bakteryjnych (lipopolisacharydy-LPS) lub prozapalnych cytokin, szczególnie interferonu  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) [3, 26].

Wszystkie trzy izoformy posiadają N-terminalną domenę o aktywności oksygenazowej i domenę C-terminalną o aktywności reduktazowej. Obie domeny mogą funkcjonować niezależnie od siebie. Domena reduktazowa ma miejsca wiązania dla NADPH<sup>+</sup>, FMN, FAD i wykazuje wysoką homologię z reduktazą cytochromu P-450. W domenie oksygenazowej znajdują się natomiast miejsca wiązania dla hemu, tetrahydrobiopteryny i argininy [25, 26].

W cytozolu komórek śródbłonka naczyń i układu nerwowego występują konstytutywne syntazy tlenu azotu typu eNOS i nNOS, których aktywność jest uzależniona od kompleksów kalmodulina – jony wapnia. Endogenne i egzogenne substancje zwiększające stężenie Ca<sup>2+</sup> w tych komórkach (np. bradykinina, acetylocholina, histamina, serotonina, trombina, czynnik aktywujący płytki krwi i inne) aktywują eNOS i nNOS. Następuje ciągła synteza przez eNOS niewielkich ilości

NO, który uczestniczy w utrzymaniu równowagi krwi/ściana naczyń krwionośnych. Jest to możliwe, ponieważ NO aktywuje cyklazę guanylową związaną z błoną podstawną naczyń krwionośnych, dzięki czemu następuje zwiększenie stężenia cGMP odpowiedzialnego za modulację stężenia wapnia w mięśniówce gładkiej naczyń i jej relaksację. Ciągła synteza NO i wewnątrzkomórkowy mechanizm działania sprawia, że tętnice są zawsze w stanie częściowej relaksacji [9, 19, 25, 27].

Uwalniany ze śródbłonka NO przechodzi nie tylko do mięśni, ale trafia też do światła naczyń krwionośnych, gdzie wiąże się z hemoglobina przepływających z prądem krwi erytrocytów. Wiele badań wskazuje, że hemoglobina może być jednym z najważniejszych magazynów NO w organizmie. Jeżeli w szczegółowych badaniach zostanie udowodnione, że uwalnianie tlenu azotu z hemoglobiny naprawdę jest możliwe, to będzie to wskazywać, że NO może działać znacznie dłużej (niż kilka sekund) i nie tylko w miejscu jego syntezy [27, 28].

nNOS, obecna w centralnym i obwodowym układzie nerwowym, jest również odpowiedzialna za stałą syntezę niewielkich ilości tlenu azotu, który pełni funkcję mediatora w układzie nerwowym. W neuronach, w wyniku pobudzenia przez glutaminian receptorów o wysokim powinowactwie do kwasu N-metylo-D-asparaginowego (NMDA), zwiększa się poziom jonów wapnia, który stymuluje syntazę nNOS do produkcji NO [25].

Powstający NO łatwo dyfunduje i działa parakrynnie na neurony, zwiększając w nich stężenie cGMP i wywołując w nich określony efekt fizjologiczny (np. aktywację kinaz serynowo/tryonowych lub regulację aktywności kanałów jonowych) [25, 28].

Indukowalna izoforma syntazy NO (iNOS) występuje zarówno w cytosolu, jak i błonach wielu komórek naszego organizmu (makrofagów, neutrofilów, fibroblastów, komórek Kupfera, hepatocytów, astrocytów, również w komórkach śródbłonka i mięśniówki gładkiej naczyń krwionośnych). Jej ekspresję indukują cytokiny (TNF- $\alpha$ , IL-1) oraz endotoksyny (lipopolisacharydy bakteryjne). iNOS ze względu na ściśle związaną z enzymem kalmodulinę nie wymaga do swojej aktywności jonów wapnia [14, 26].

NO produkowany przez iNOS w większych ilościach wykazuje działanie cytostatyczne i cytotoksyczne. Wzrost jej aktywności w odpowiedzi na stan zapalny wzmacnia reakcje obronne organizmu. Indukcja tej izoformy NOS jest również odpowiedzialna za rozszerzenie naczyń krwionośnych [28].

Badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że powstające w wyniku metylacji argininy NMMA i ADMA (N<sup>G</sup>-monometylo-L-arginina i N<sup>G</sup>N<sup>G</sup>-dimetylo-L-



arginina) uczestniczą w regulacji syntezy NO. Pełnią one funkcję kompetycyjnych inhibitorów wszystkich izoform NOS [29].

## NO jako cząsteczka sygnałowa

NO jako cząsteczka sygnałowa działa przez aktywację cykazy guanylowej oraz S-nitrozylację białek. Ta lipofilna cząsteczka bardzo łatwo przenika przez błony komórkowe do wnętrza komórki, gdzie jest odpowiedzialna za aktywację cykazy guanylowej, która przekształca GTP do cGMP. Ponieważ cytozolowa cykaza guanylowa jest hemoproteiną, mechanizm działania NO polega na kowalencyjnym wiązaniu się z grupą hemoową enzymu, co prowadzi do wzrostu jego aktywności i zwiększenia syntezy wewnątrzkomórkowego cGMP-regulatora wielu procesów zachodzących w komórkach organizmów. Jon żelaza  $Fe^{3+}$  w pierścieniu hemowym jest związany koordynacyjnie z pięcioma ligandami. NO aktywuje cyklazę guanylową przez utworzenie z  $Fe^{3+}$  szóstego wiązania koordynacyjnego, co wymusza zmiany w strukturze przestrzennej enzymu [19, 27].

cGMP jako przekaznik II rzędu uczestniczy w aktywacji enzymów, wywołując w komórce określony efekt biologiczny, np. w naczyniach krwionośnych dochodzi do rozkurczu mięśni gładkich. Odbywa się to na drodze aktywacji kinaz zależnych od cGMP lub kanałów jonowych bramkowanych przez ligandy (tzw. *ligand gated channels*). cGMP działa przez aktywowanie kinazy białkowej G (PKG), która występuje w postaci dwóch izoform cGK I i cGK II. W układzie krwionośnym zidentyfikowano dwie izoformy cGK I – cGK I $\alpha$  oraz cGK I $\beta$ . Cykliczny GMP aktywuje głównie formę cGK I $\alpha$  w komórkach naczyń krwionośnych i płytkach krwi, a forma cGK I $\beta$  występuje w mózgu, nerkach i jelicie [28, 30].

Rozkurcz mięśni gładkich naczyń krwionośnych w odpowiedzi na działanie NO jest związany z aktywnością cGK I $\alpha$ . Napięcie tych mięśni jest regulowane przez fosforylację łańcucha lekkiego miozyny, którą katalizuje odpowiednia kinaza. Kinaza ta jest z kolei aktywowana przez odłączenie grupy fosforanowej z udziałem guanozyno-5'-fosfatazy RhoA. NO za pośrednictwem cGMP i cGK I $\alpha$  prowadzi do ufosforylowania RhoA, powodując w ten sposób utratę jej aktywności. Ostatecznym wynikiem działania NO jest brak fosforylacji łańcucha lekkiego miozyny, a co za tym idzie – rozkurcz mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Dodatkowo cGMP-zależna kinaza białkowa fosforylując fosfolipazy beta-2 i beta-3, indukuje wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego  $Ca^{2+}$

i tym samym podtrzymuje zjawisko rozkurczu mięśni [30, 31].

W komórkach tlenek azotu działa nie tylko na drodze aktywacji cykazy guanylowej, ale również przez S-nitrozylację białek. *In vivo* NO nitrozyluje w białkach głównie reszty cysteiny. Reakcja jest możliwa dzięki temu, że łańcuch boczny cysteiny ma bardzo reaktywną grupę sulfhydrylową (-SH). Jest to modyfikacja potranslacyjna [19].

Powstawanie nitrozotiole jest możliwe dzięki temu, że tlenek azotu, reagując z tlenem lub kationami metali o właściwościach utleniających, tworzy reaktywny jon nitrozoniowy  $NO^+$ . Ten z kolei, łącząc się z grupą -SH cysteiny, przekształca się w grupę nitrozotiolową -SNO. Reakcja jest możliwa pod warunkiem, że w sąsiedztwie cysteiny znajdują się odpowiednie sekwencje XYCys (Asp lub Glu), gdzie X może być każdym z następujących aminokwasów: Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr lub Gln, a Y mogą być następujące aminokwasy: Lys, Arg, His, Asp lub Glu [19, 32, 33].

W warunkach fizjologicznych w reakcji nitrozylacji powstają stabilne nitrozotiole. Są to głównie S-nitrozoalbumina (SNO-Alb), S-nitrozohe-moglobina (SNO-Hb) lub S-nitrozoglutation (GSNO). Ze względu na swoją stabilność pełnią funkcje magazynowania i transportowania tlenu azotu w organizmie. Utlenianie tioli prowadzi do zmniejszenia puli naturalnych antyoksydantów (np. glutationu) w organizmie [32].

W osoczu główną formą występowania tlenu azotu jest S-nitrozoalbumina, która stanowi 85% wszystkich nitrozotiole osocza i podobnie jak S-nitrozoglutation wykazuje zdolność rozszerzania naczyń krwionośnych i hamowania agregacji płytek krwi. S-nitrozoglutation spełnia również bardzo ważną rolę w przekazywaniu sygnałów i obronie komórek przed atakiem patogenów [32].

Nitrozylacja modyfikuje funkcje wielu białek. Dotyczy to między innymi działania kanałów jonowych. Wykazano, że kanały bramkowane przez cykliczne nukleotydy otwierają się dzięki nitrozylacji. Wiele białek, np.: p21, Rac1, Cdc42, ERK, JNK i P38, jest aktywowanych przez S-nitrozylację. Proces ten jest również ważny w regulacji transkrypcji np. S-nitrozylacja czynnika transkrypcyjnego p50 zmniejsza jego powinowactwo do DNA [33].

## Funkcje NO w układzie sercowo-naczyniowym

Główna rola NO produkowanego przez komórki śródbłonna naczyń krwionośnych polega na rozszerzaniu naczyń krwionośnych, co jest możliwe dzięki relaksacji mięśni gładkich ścian naczyń krwionośnych. Bierze on również udział

w regulacji napięcia ścian naczyń. Jego stała synteza w śródbłonku przeciwdziała rozwojowi nadciśnienia, NO obniżając opór naczyniowy, uczestniczy w regulacji ciśnienia krwi. Tlenek azotu hamuje agregację płytek krwi i uwalnia z nich substancje o silnym działaniu biologicznym, np. czynnik aktywujący płytki krwi, tromboksan, inhibitor aktywatora plazminogenu lub czynniki wzrostu i inne. Również nitrozotiole: nitrozoalbumina i nitrozoglutation, podobnie jak i NO, mogą hamować agregację płytek krwi (ryc. 1) [27, 28].

Uwalniany z komórek śródbłonka tlenek azotu zapobiega podziałom komórek mięśni gładkich oraz gromadzeniu się (adhezji) płytek krwi na powierzchni śródbłonka. Z kolei NO hamując aktywację płytek krwi i fibrynolizę, zapobiega powstawaniu przyściennych zakrzepów. W przypadku uszkodzenia komórek śródbłonka, co ma miejsce bardzo często w powstawaniu miażdżycy, dochodzi do zaburzeń w syntezie NO. Powstaje wtedy mniej NO, przy ścianach naczyń gromadzą się płytki krwi oraz makrofagi i rozpoczyna się proces tworzenia złożeń miażdżycowych. Wykazanie zarówno w układach *in vitro* i *in vivo*, że w miażdżycy dochodzi do zaburzeń w syntezie NO wskazuje, że jego niedobór ma istotne znaczenie w rozwoju blaszki miażdżycowej [9, 18, 27].

## Agmatyna i NO

Z L-argininy w reakcji dekarboksylacji katalizowanej przez ADC powstaje CO<sub>2</sub> i agmatyna [4-(aminobutyl)-guanina], znana jako ligand receptora  $\alpha_2$ -adrenergicznego w ośrodkowym układzie nerwowym. Mimo że biologiczne funkcje agmantyny nie są do końca poznane, istnieje wiele badań wskazujących, że pełni ważne funkcje w sygnalizacji komórkowej [16, 17].

Agmatyna może hamować syntezę tlenu azotu lub poliamin. W badaniach *in vivo* wykazano,

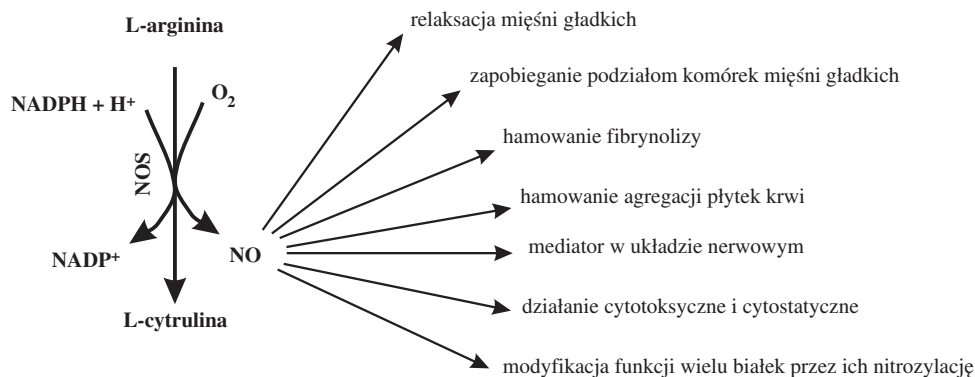
że agmatyna indukuje syntezę antyzymu, który hamuje aktywność ODC, co prowadzi do obniżenia stężenia poliamin i zahamowania proliferacji komórek [1, 4, 17]. Agmatyna, jeżeli jej stężenie jest wystarczająco duże, jest kompetycyjnym inhibitorem izoform NOS, co sugeruje, że może pełnić funkcję endogennego regulatora syntezy NO [22].

Podobnie jak tlenek azotu agmatyna posiada zdolność do regulowania wewnątrzkomórkowego poziomu wapnia. Hamuje napływ Ca<sup>2+</sup> do wnętrza miocytów. Prawdopodobnie jest to związane z hamowaniem depolaryzacji błon za pośrednictwem receptorów  $\alpha_2$ -adrenergicznych i imidazolowych. Wydaje się, że agmatyna jest alternatywnym substratem dla eNOS i może powodować rozkurcz mięśni gładkich. Zaobserwowano, że w komórkach śródbłonka aktywuje eNOS, czemu towarzyszy zwiększona produkcja NO [16, 17].

Przypuszczalne jej działanie w układzie krążenia wiąże się przede wszystkim z aktywacją eNOS i hamowaniem iNOS, co chroni naczynia przed skutkami toksycznego działania NO syntetyzowanego z udziałem tego enzymu (iNOS) [19, 22]. Ponieważ większość badań przeprowadza się w układach *in vitro*, działanie agmatyny w układzie krążenia nie jest jeszcze dostatecznie dobrze poznane i wymaga wielu dalszych badań przeprowadzonych przede wszystkim w układzie *in vivo* (w warunkach fizjologicznych).

## Choroby układu sercowo-naczyniowego a arginina i NO

Zmiany chorobowe w układzie krążenia, nazywane dysfunkcjami śródbłonka naczyniowego, są często związane ze zmniejszeniem ilości syntetyzowanego NO. Z tym zjawiskiem wiąże się stres oksydacyjny w komórkach śródbłonka, co



Ryc. 1. Synteza tlenu azotu (NO) i jego główne funkcje w organizmie człowieka

Fig. 1. Synthesis of nitric oxide (NO) and its main functions in human organism

ma istotny związek z etiologią wielu zmian patologicznych w układzie krążenia. Stres oksydacyjny w komórkach ścian naczyń krwionośnych zmienia regulację przepływu krwi, hamuje adhezję i agregację płytek krwi, adhezję leukocytów oraz wzrost komórek. Sprzyja również wnikaniu  $\text{Ca}^{2+}$  do wnętrza komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, stymulując zmiany prowadzące do rozwoju miażdżycy i choroby nadciśnieniowej. W badaniach na zwierzętach (szczurach) wykazano modulujący wpływ NO na powstawanie wolnych rodników tlenowych (WRT), np. anionorodnika ponadtlenkowego i ich reaktywnych form, takich jak nadtlenek wodoru lub nadtlenoazotyn, które wydają się zaangażowane w fizjologię i patologię układu sercowo-naczyniowego [34–37].

W komórkach naczyń krwionośnych jest wiele enzymów, które potencjalnie mogą wytwarzać WRT. Głównym ich źródłem jest oksydaza NADH/NADPH, która jest zlokalizowana w błonie komórkowej komórek śródbłonkowych i mięśniowych naczyń krwionośnych. Z jej udziałem powstają duże ilości anionorodnika ponadtlenkowego. Reakcje katalizowane przez oksydazę ksantynową mogą być również źródłem nadtlenu wodoru. Z kolei zaktywowane neutrofile i monocyty wydzielają do przestrzeni międzykomórkowej mieloperoksydazę. Katalizuje ona utlenianie  $\text{Cl}^-$  z udziałem  $\text{H}_2\text{O}_2$  do kwasu ponadchlorowego (HOCl), który łatwo reaguje z grupami sulfhydrylowymi, wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi, DNA, nukleotydami pirymidynowymi, aminokwasami i innymi związkami zawierającymi azot [20, 35, 36].

WRT i ich pochodne mogą sprzyjać powstawaniu uszkodzeń tkanek przez zmianę równowagi proteazy/antyproteazy. Przykładowo HOCl aktywuje kolagenazy wydzielane przez neutrofile, a hamuje inhibitory proteaz występujące w przestrzeni międzykomórkowej [37].

Przykładem choroby układu krążenia, której patogenеза prawdopodobnie ma związek z zaburzeniami syntezy lub działania NO jest choroba nadciśnieniowa i miażdżycy [6, 27]. Podawanie osobom chorym na nadciśnienie acetylocholiną w celu zwiększenia wydzielania NO przez komórki śródbłonka powodowało spadek ciśnienia krwi. Z kolei suplementowanie arginina nie łagodziło objawów nadciśnienia, co wskazuje, że przyczyną wzrostu ciśnienia krwi nie jest zaburzenie syntezy tlenu azotu, ale nadmierna inaktywacja tego związku przez wytwarzane przez oksydazę ksantynową i oksydazę NAD(P)H zwiększonych ilości anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru. W związku z tym podawanie chorym na nadciśnienie związków, z których może powstawać NO, np. substytutów NO (nitrogliceryny i azota-

nów organicznych lub argininy), oraz suplementacja antyoksydantami może mieć duże znaczenie w leczeniu tego schorzenia ze względu na działanie ochronne przez zmiatanie/unieczynnianie wolnych rodników tlenowych. W przypadku zmian miażdżycowych stwierdzono również obniżenie ilości NO w naczyniach krwionośnych oraz spadek poziomu eNOS. NO wykazuje w tym przypadku działanie zarówno pro-, jak i antyoksydacyjne [35, 38, 39].

Arginina w naczyniach krwionośnych, poza udziałem w syntezie NO, jako aminokwas zasadowy uczestniczy w depolaryzacji błon komórek śródbłonka, reguluje pH wewnątrzkomórkowe oraz pH krwi. W stężeniu 0,5–1 mmol/l arginina zmiata/unieczynnia anionorodniki ponadtlenkowe, hamuje peroksydację lipidów inicjowaną przez jony metali przejściowych (zwłaszcza miedź), co wskazuje na jej antyoksydacyjne działanie [6, 38].

Arginina jako inhibitor enzymu konwertującego angiotensynę zmniejsza ilość angiotensyny II, wpływając tym samym na napięcie naczyń krwionośnych. Arginina uaktywnia układ fibrynolityczny i hamuje niezależnie od NO adhezję leukocytów, zapobiegając rozwojowi arteriosklerozy [6, 9].

Zmniejszenie ilości NO w śródbłonku naczyń krwionośnych zaobserwowano u osób z hipercholesterolemią. Zjawisko to jest związane prawdopodobnie z działaniem endogenego inhibitora NOS – dimetyloargininy, której stężenie u chorych jest podwyższone, a także ze zwiększoną syntezą WRT. Podawanie L-argininy w tym przypadku korzystnie wpływało na funkcjonowanie śródbłonka naczyniowego, co wyrażało się rozszerzaniem naczyń krwionośnych i zwiększaniem przepływu krwi [39–41].

NO i jego substrat arginina są zaangażowane również w patogenезę chorób serca, np. choroby wieńcowej. Rozkucz naczyń zależny od działania śródbłonka jest bowiem zaburzony (zmniejszony lub nie występuje wcale) także w przypadku tych chorób. Podawanie argininy osobom z chorobą wieńcową poprawiało przepływ wieńcowy, a przez to powodowało zwiększenie tolerancji na wysiłek. Korzystne działanie argininy jest przede wszystkim związane z aktywowaniem syntezy NO i zmniejszeniem stymulacji układu sympatycznego. Z kolei u chorych na niewydolność serca po podawaniu argininy zaobserwowano poprawę ich stanu klinicznego w związku z poprawą funkcji śródbłonka, objawiającą się rozszerzaniem naczyń wieńcowych i obwodowych oraz poprawą funkcji wyrzutowej serca [1, 2, 41].

Innym schorzeniem, w przypadku którego próby zastosowania argininy przyniosły korzystne efekty jest dusznica bolesna. U chorych na du-

sznić bolesną po suplementowaniu argininy zaobserwowano znaczący spadek poziomu adhezyn komórkowych i cytokin prozapalnych. Korzystne działanie argininy w leczeniu dusznicy tłumaczy się zwiększaniem zależnego od śródbłonna rozkurczu naczyń wieńcowych [9]. Dysfunkcje śródbłonna związane z zaburzeniami syntezy NO występują również w patogenezie tzw. stanu przedzrzucawkowego. Podawanie argininy osobom z tym schorzeniem podwyższało wytwarzanie NO w naczyniach obwodowych i obniżało ciśnienie krwi [9, 42].

NO pełni ważną rolę w regulowaniu napięcia mózgowych naczyń krwionośnych. W przypadku niedoborów tlenu azotu w tych naczyniach podawanie argininy nasilało jego syntezę, zwiększając szansę przeżycia komórek mózgowych w miejscach ogniskowego niedotlenienia mózgu i reperfuzji. Podobne działanie argininy wykazano w przypadku niedokrwienia mięśnia sercowego. Arginina pełni więc funkcję ochronną przed skutkami niedotlenienia i uszkodzeniami powstałymi w wyniku reperfuzji [1, 2, 41, 42].

Argininę zastosowano również w terapii chorych na jaskrę, ponieważ jest to choroba związana z zaburzeniami funkcji śródbłonna naczyń tarczy nerwu wzrokowego, a jej głównym objawem jest wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego. W badaniach na zwierzętach stwierdzono, że podawanie argininy powoduje spadek wewnątrzgałkowego ciśnienia śródbłonkowego [43].

Zaburzenia relaksacji mięśni gładkich naczyń krwionośnych towarzyszą także cukrzycy. U chorych na cukrzycę zaobserwowano zarówno zmniejszenie syntezy NO przez eNOS, jak i obniżenie stężenia argininy we krwi. Obserwacje te były podstawą do suplementowania tych osób arginina, co prowadziło do obniżenia ciśnienia krwi i zmniejszenia agregacji płytek krwi [35, 40, 44].

Stwierdzono również, że arginina może być pomocna w usuwaniu/zapobieganiu skutków działania dymu papierosowego, gdyż zawiera on liczne prooksydanty i WRT, które powodują dysfunkcję śródbłonna naczyniowego związane z zaburzeniami syntezy NO. Stąd też suplementowanie argininy jako substratu w tej syntezie normalizowało skurcz naczyń krwionośnych u nałogowych palaczy [9, 38, 42].

Starzenie się organizmu jest związane ze zmniejszaniem się ilości endogennej argininy i spadkiem syntezy NO, co powoduje powstawanie dysfunkcji śródbłonna naczyń. Uzasadnione jest więc suplementowanie argininy u osób starszych, tym bardziej iż zaobserwowano jej korzystne działanie na układ krążenia, np. poprawia ona hemodynamikę krążenia wieńcowego i zmniejsza ciśnienie tętnicze [2, 6, 9].

## Arginina jako lek

W świetle prowadzonych na świecie oraz w Polsce badań i uzyskanych wyników wydaje się, że arginina może być stosowana jako lek wspomagający w chorobach wątroby i układu sercowo-naczyniowego. Najwięcej danych naukowych dotyczy właśnie klinicznego zastosowania L-argininy w leczeniu chorób układu krążenia i wątroby.

Kluczowe znaczenie w rozwoju chorób związanych z dysfunkcją śródbłonna ma zmniejszenie ilości biologicznie czynnego śródbłonkowego tlenu azotu, które wynika ze spadku syntezy NO lub nasilonej inaktywacji oksydacyjnej tego związku przez WRT i ich pochodne powstające w dużych ilościach w chorobach naczyniowych [36]. Sposobem zwiększenia biologicznie czynnego NO jest ograniczenie wytwarzania reaktywnych form tlenu oraz nasilenie jego syntezy, dlatego celowe wydaje się stosowanie w przypadku dysfunkcji śródbłonna suplementacji antyoksydantami i arginina jako substratem dla eNOS [2, 18, 19, 29].

Odkrycie, że arginina jest substratem w syntezie tlenu azotu spowodowało, że zaczęto wykorzystywać ją w terapii chorób charakteryzujących się niedoborami NO w celu zwiększania jego syntezy. Bardzo dobre wyniki uzyskiwano, stosując L-argininę w leczeniu nadciśnienia tętniczego, patologii ciąży związanych z nadciśnieniem krwi, chorobie niedokrwiennej, niewydolności krążenia, miażdżycy, cukrzycy, jaskrze, udarach mózgowych i zakrzepach naczyniowych, niewydolności nerek, zaburzeniach czynności wątroby związanych z nieprawidłowym przebiegiem cyklu mocznikowego i zatruciach amoniakiem [6, 9]. Dobre wyniki uzyskiwano, stosując argininę w leczeniu wspomagającym miażdżycę tętnic kończyn dolnych [29, 38, 40]. Przykładowo, podawanie L-argininy osobom chorym na nadciśnienie tętnicze zapobiegało wzrostowi ciśnienia. U kobiet z nadciśnieniem indukowanym ciążą podawanie argininy w dawkach 6 g dziennie prowadziło do unormowania ciśnienia [40]. U chorych na miażdżycę tętnic kończyn dolnych zastosowanie argininy poprawiało funkcje śródbłonkowe, prowadząc do rozszerzania naczyń krwionośnych i zwiększenia przepływu krwi w tętnicach udowych. Długotrwale stosowanie argininy u chorych z chorobą wieńcową zmniejszało objawy bólowe i poprawiało przepływ wieńcowy [38, 41].

Arginina jest również stosowana jako lek ochraniający wątrobę i wspomagający jej funkcje. Ponieważ jest substancją naturalnie występującą w pożywieniu i syntetyzowaną w organizmie, wydaje się związkiem bezpiecznym na tyle, że jej syntetyczny analog został dopuszczony do sprze-



daży bez recepty jako preparat farmakologiczny pod nazwą arginina. Jego korzystne działanie polega na stymulacji procesu detoksykacji amoniaku w wątrobie [2, 40].

Z roku na rok rozszerzają się możliwości klinicznego zastosowania argininy w leczeniu różnych schorzeń. Wyniki wielu badań klinicznych wskazują, że arginina może być stosowana zarówno w terapii, jak i profilaktyce wielu patologii. Stosowanie nawet w dużych dawkach nie wykazuje działań niepożądanych. W niewielu przypadkach (ułamek procenta) mogą pojawiać się zaburzenia

ze strony przewodu pokarmowego (nudności, biegunki) [2, 9]. W świetle badań nad rolą argininy w zaburzeniach sercowo-naczyniowych wydaje się, że suplementacja arginina może stanowić potencjalną strategię w prewencji chorób układu krążenia. Jednak upowszechnienie tej strategii wymaga ostatecznego wyjaśnienia mechanizmu/mechanizmów działania argininy w układzie sercowo-naczyniowym, a to wymaga intensywnych i wielośrodkowych badań klinicznych, które są szansą na uzyskanie bezpiecznego leku o dużym potencjale terapeutycznym [2, 29, 38, 41].

## Piśmiennictwo

- [1] **Blantz RC, Satriano J, Gabbai F, Kelly C:** Biological effects of arginine metabolites. *Acta Physiol Scand* 2000, 168, 21–25.
- [2] **Flynn NE, Meininger CJ, Haynes TE, Wu G:** The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy. *Biomed Pharmacother* 2002, 56, 427–438.
- [3] **Morris SM Jr:** Arginine synthesis, metabolism and transport: regulators of nitric oxide synthesis. In: *Cellular and Molecular Biology of Nitric Oxide*. Eds: Laskin JD, Laskin DL, Dekker, New York 1999, 57–85.
- [4] **Ścibior D, Cieczot H:** Arginina – metabolizm i funkcje w organizmie człowieka. *Postępy Hig Med Dośw* 2004, 58, 321–332.
- [5] **Wu G, Morris SM Jr:** Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 1998, 336, 1–17.
- [6] **Wu G, Meininger CJ, Knabe DA, Bazer FW, Rhoads JM:** Arginine nutrition in development, health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000, 3, 59–66.
- [7] **Gornik HL, Creager MA:** Arginine and endothelial and vascular health. *J Nutr* 2004, 134, 2880–2887.
- [8] **Tong BC, Barbul A:** Cellular and physiological effects of arginine. *Mini Rev Med Chem* 2004, 4, 823–832.
- [9] **Wu G, Meininger CJ:** Arginine nutrition and cardiovascular function. *J Nutr* 2000, 130, 2626–2629.
- [10] **Closs EL, Mann GE:** Membrane transport of arginine and cationic amino acids analogs. In: *Nitric oxide in physiology and pathology*. Eds.: Ignarro LJ. Academic Press, New York 2000, 225–241.
- [11] **Durante W:** Regulation of arginine transport and metabolism in vascular smooth muscle cells. *Cell Biochem Biophys* 2001, 35, 19–34.
- [12] **Deves R, Boyd CAR:** Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure and function. *Physiol Rev* 1998, 78, 487–545.
- [13] **MacLeod CL, Finley KD, Kakuda DK:** Y(+) type cationic amino acids transport: expression and regulation of the mCAT genes. *J Exp Biol* 1994, 196, 109–121.
- [14] **Lee J, Ryu H, Ferrante RJ, Morris SM Jr, Ratan RR:** Translational control of inducible nitric oxide synthase expression by arginine can explain the arginine paradox. *PNAS* 2003, 100, 4843–4848.
- [15] **Boger RH:** Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the “arginine paradox” and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J Nutr* 2004, 134, 2842–2847.
- [16] **Raasch W, Schafer U, Chun J, Dominiak P:** Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding site. *Br J Pharmacol* 2001, 133, 755–780.
- [17] **Reis DJ, Regunathan S:** Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol Sci* 2000, 21, 187–193.
- [18] **Ignarro LJ, Cirino G, Casini A, Napoli C:** Nitric oxide as a signalling molecule in the vascular system: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999, 34, 879–886.
- [19] **Raghavan SAV, Dikshit M:** Vascular regulation by the L-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine. *Pharmacol Res* 2004, 49, 397–414.
- [20] **Maxwell AJ, Cooke JP:** Cardiovascular effects of L-arginine. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998, 7, 63–70.
- [21] **Satriano J, Kelly CJ, Blantz RC:** An emerging role for agmatine. *Kidney Int* 1999, 56, 1252–1253.
- [22] **Morrissey JJ, Klahr S:** Agmatine activation of nitric oxide synthase in endothelial cells. *Proc Assoc Am Physicians* 1997, 109, 51–57.
- [23] **Boucher JL, Moali C, Tenu JP:** Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell Mol Life Sci* 1999, 55, 1015–1528.
- [24] **Wu G, Meininger CJ:** Regulation of nitric oxide synthesis by dietary factors. *Annu Rev Nutr* 2002, 22, 61–86.
- [25] **Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG:** Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001, 357, 593–615.
- [26] **Mungrue IN, Bredt DS, Stewart DJ, Husain M:** From molecules to mammals: what’s NOS got to do with it? *Acta Physiol Scand* 2003, 179, 123–135.
- [27] **Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA:** Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991, 43, 109–142.

- [28] **Davis KL, Martin E, Turko IV, Murad F:** Novel effects of nitric oxide. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2001, 41, 203–236.
- [29] **Boger RH, Bode-Boger SM:** The clinical pharmacology of L-arginine. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2001, 41, 79–99.
- [30] **Fischmeister R, Mery PF:** Regulation of cardiac calcium channels by cGMP and NO. In: *Molecular physiology and pharmacology of cardiac ion channels and transporters*. Eds.: Morad M, Ebashi S, Trautwein W, Karachi U. Kluwer Academic Publishers, London 1997, 93–105.
- [31] **Sawada N, Itoh H, Yamashita J, Doi K, Inoue M, Masatsuga K:** cGMP dependent protein kinase phosphorylates and inactivates RhoA. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 280, 798–805.
- [32] **Foster MW, McMahon TJ, Stamler JS:** S-nitrosylation in health and disease. *Trends Mol Med* 2003, 9, 160–168.
- [33] **Hogg N:** The biochemistry and physiology of S-nitrosothiols. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2002, 42, 585–600.
- [34] **Moncada S, Higgs A:** Mechanisms of disease: the L-arginine – nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 2002, 329, 2002–2012.
- [35] **Kojda G, Harrison D:** Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res* 1999, 43, 562–571.
- [36] **Dhalla NS, Termsah RM, Neticadan T:** Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens* 2000, 18, 655–673.
- [37] **Cai H, Harrison DG:** Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. The role of oxidant stress. *Circ Res* 2000, 87, 840–844.
- [38] **Tousoulis D, Antoniadis C, Tentolouris C, Goumas G, Stefanadis C, Toutouzas P:** L-arginine in cardiovascular disease: dream or reality? *Vasc Med* 2002, 7, 203–211.
- [39] **Maxwell AJ, Anderson B, Zapien MP, Cooke JP:** Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is reversed by a nutritional product designed to enhance nitric oxide activity. *Cardiovasc Drugs Ther* 2000, 14, 309–316.
- [40] **Kostka-Trąbka E:** Arginina – znany aminokwas o nowych możliwościach zastosowań klinicznych. *Ordynator Leków* 2002, 3, 15–19.
- [41] **Preli RB, Klein KP, Herrington DM:** Vascular effects of dietary L-arginine supplementation. *Atherosclerosis* 2002, 162, 1–15.
- [42] **Cooke JP, Mont-Reynaud R, Tsao PS, Maxwell AJ:** Nitric oxide and vascular diseases. In: *Nitric oxide: biology and pathology*. Eds.: Ignarro LJ. Academic Press, New York 2000, 759–783.
- [43] **Neufeld AH, Hernandez MR, Gonzales M:** Nitric oxide synthase in the human glaucomatous optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 1997, 115, 497–503.
- [44] **Pieper GM:** Review of alteration in endothelial nitric oxide production in diabetes. *Hypertension* 1998, 31, 1047–1060.

### Adres do korespondencji:

Dorota Ścibior  
Katedra i Zakład Biochemii AM  
ul. Banacha 1  
02-097 Warszawa  
e-mail: dorsci@wp.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 29.12.2004 r.  
Po recenzji: 24.01.2005 r.  
Zaakceptowano do druku: 08.02.2005 r.

Received: 29.12.2004  
Revised: 24.01.2005  
Accepted: 08.02.2005