

PierMarco Piatti, Lucilla D. Monti, Gianpietro Valsecchi, Fulvio Magni, Emanuela Setola, Federica Marchesi, Marzia Galli-Kienle, Guido Pozza, K. George M.M. Alberti

# Wpływ długotrwałego doustnego stosowania L-argininy na poprawę insulinowrażliwości obwodowej i wątrobowej u chorych na cukrzycę typu 2

Long-term oral L-arginine administration improves peripheral and hepatic insulin sensitivity in type 2 diabetic patients

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetes Care* 2001, 24, 5, 875–880

## STRESZCZENIE

**WSTĘP.** Celem badania była ocena wpływu przewlekłego doustnego stosowania L-argininy, działającej przez normalizację szlaku NO/cykliczny 3',5'-guanozyno monofosforan (cGMP), na poprawę insulinowrażliwości obwodowej i wątrobowej u 12 szczupłych osób chorych na cukrzycę typu 2.

**MATERIAŁ I METODY.** Badanie, przeprowadzone metodą podwójnie ślepej próby, trwało 3 miesiące. W pierwszym miesiącu chorych leczono typową dietą cukrzycową. Następnie losowo przydzielono ich do dwóch grup. W grupie 1 przez 2 miesiące stosowano typową dietę i placebo (doustnie 3 × d.). W grupie 2 pacjentów leczono przez miesiąc dietą i placebo (doustnie 3 × d.) i następnie przez miesiąc dietą i L-argininą (3 g 3 × d.). Po pierwszym i drugim miesiącu wykonano badanie za pomocą klamry euglikemiczno-hiperinsulinemicznej z jednoczesnym wlewem dożylnym znakowanej izotopowo glukozy (glukoza 6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>). Grupą kontrolną stanowiło 10 zdrowych osób, u których również wykonano badanie za pomocą klamry.

**WYNIKI.** W grupie 1 w czasie badania nie zaobserwowano zmian podstawowego stężenia cGMP, skurczowego ciśnienia tętniczego, przepływu krwi w przedramieniu, wykorzystania glukozy i endogennej produkcji glukozy. W grupie 2 przyjmowanie L-argininy spowodowało normalizację podstawowego stężenia cGMP, poprawę przepływu w przedramieniu o 36%, oraz wykorzystania glukozy w badaniu metodą klamry metabolicznej o 34%, jak również obniżenie skurczowego ciśnienia tętniczego i endogennej produkcji glukozy odpowiednio o 14 i 29%. Pomimo tego w porównaniu z grupą kontrolną podawanie L-argininy nie normalizuje całkowicie metabolizmu glukozy.

**WNIOSKI.** Podawanie L-argininy u chorych na cukrzycę typu 2 znacznie poprawia insulinowrażliwość obwodową i wątrobową, lecz nie normalizuje jej całkowicie.

**Słowa kluczowe:** insulinowrażliwość, cukrzyca, L-arginina

## ABSTRACT

**INTRODUCTION.** The aim of this study was to evaluate whether long-term administration of L-arginine acting through a normalization of NO/cyclic-guanosine-3',5'-cyclic monophosphate (cGMP) pathway was able to ameliorate peripheral and hepatic insu-

Copyright © 2001 by American Diabetes Association, Inc. American Diabetes Association nie odpowiada za poprawność tłumaczenia z języka angielskiego.

Diabetologia Praktyczna 2002, tom 3, nr 2, 83–90  
Tłumaczenie: lek. med. Anna Kosmol  
Wydanie polskie: Via Medica

lin sensitivity in 12 lean type 2 diabetic patients.

**MATERIAL AND METHODS.** A double-blind study was performed for 3 months. In the first month, patients were treated with their usual diet. Then they were randomly allocated into two groups. In group 1, patients were treated with diet plus placebo (orally three times per day) for 2 months. In group 2 patients were treated for 1 month with diet plus placebo (orally, three times per day) and then for 1 month with diet plus L-arginine (3 g three times per day). At the end of the first and the second month of therapy, patients underwent a euglycemic-hyperinsulinemic clamp combined with [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucose infusion. A total of 10 normal subjects underwent the same test as control subjects.

**RESULTS.** In group 1, no changes in basal cGMP levels, systolic blood pressure, forearm blood flow, glucose disposal, and endogenous glucose production were observed throughout. In group 2, L-arginine normalized basal cGMP levels and significantly increased forearm blood flow by 36% and glucose disposal during the clamp by 34%, whereas it decreased systolic blood pressure, and endogenous glucose production by 14 and 29%, respectively. However, compared with normal subjects, L-arginine treatment was not able to completely overcome the defect in glucose disposal.

**CONCLUSIONS.** L-arginine treatment significantly improves but does not completely normalize peripheral and hepatic insulin sensitivity in type 2 diabetic patients.

**Key words:** insulin sensitivity, diabetes, L-arginine

## Wstęp

Istnieją sprzeczne opinie dotyczące wpływu insuliny na tlenek azotu (NO), silnie działającą substancję rozszerzającą naczynia tętnicze. Baron i wsp. [1, 2] wykazali, że stymulowane przez insulinę rozszerzenie naczyń w dużym stopniu zależy od pobudzanego przez insulinę uwalniania NO, podczas gdy Petrie i wsp. [3] udowodnili, że wśród zdrowych osób istnieje pozytywna zależność śródbłonkowej syntezy NO i insulinowrażliwości [4]. Ponadto, u pacjentów otyłych i chorych na cukrzycę typu 2, reakcja naczynioroszerzająca zależna od insuliny wydaje się upośledzona. Mimo że Yki-Jarvinen i wsp. [5] nie znaleźli żadnego związku pomiędzy działaniem insuliny a wzrostem przepływu krwi wśród osób szczupłych i otyłych, wszyscy badacze zgadzają się, że rozszerzenie naczyń zależne od metacholiny jest upośledzone u osób z insulinopornością.

L-arginina jest prekursorem NO. W badaniach *in vitro* i *in vivo* wykazano, że w pewnych warunkach może ona zwiększać efekt wazodylatacyjny [6]. Badania eksperymentalne na królikach karmionych dietą wysokocholesterolową wykazały, że suplementacja diety L-argininą zmniejsza dysfunkcję śródbłonka przez zwiększenie syntezy NO, wywołując zmniejszenie aktywacji płytek [7], adhezji monocytów [8] i znacznie ograniczając powstawanie zmian miażdżycowych w aorcie i naczyniach wieńcowych [9]. Ponadto, u młodych osób z hipercholesterolemią podawanie L-argininy powoduje znaczną poprawę wazodylatacji zależnej od funkcji śródbłonka i po 4 tygodniach znacząco zmniejsza zmiany miażdżycowe w naczyniach [10]. Mimo że poznano wpływ krótkotrwałego stosowania L-argininy na wydzielanie insuliny u ludzi [11], nie ma wielu informacji dotyczących wpływu długotrwałego podawania L-argininy na insulinowrażliwość u chorych na cukrzycę typu 2.

Dlatego celem badania była ocena, czy długotrwałe podawanie L-argininy, przez normalizację szlaku NO/cykliczny 3',5'-guanozylo-monofosforan (cGMP), poprawia obwodową i wątrobową insulinowrażliwość u 12 szczupłych osób chorych na cukrzycę typu 2 z dobrą kontrolą glikemii.

## Materiał i metody

Lokalna komisja badań naukowych zaakceptowała protokół badania. Po udzieleniu wyczerpujących informacji od każdego pacjenta uzyskano zgodę na udział w badaniu. Obserwacji poddano 12 szczupłych chorych na cukrzycę typu 2 (wiek  $58 \pm 3$  lata, BMI  $25,3 \pm 0,9$  kg/m<sup>2</sup>) z dobrą kontrolą metaboliczną (hemoglobina glikowana — HbA<sub>1c</sub>  $5,7 \pm 0,1\%$ ), leczonych jedynie dietą. Kryteria włączenia do badania były następujące: prawidłowe stężenie hemoglobiny glikowanej jednocześnie ze stabilną masą ciała przez 6 miesięcy przed rozpoczęciem badania, brak powikłań cukrzycy z wyjątkiem niewielkiej retinopatii, leczenie dietą, prawidłowe wartości skurczowego (SBP, *systolic blood pressure*) i rozkurczowego (DBP, *diastolic blood pressure*) ciśnienia krwi i nieprzyjmowanie leków hipotensyjnych, prawidłowa krzywa EKG zarejestrowana w spoczynku, brak choroby niedokrwiennej serca w wywiadzie, prawidłowa funkcja wątroby i nerek.

W celu ustalenia wartości krążącego cGMP na czczo w dużej populacji chorych na cukrzycę typu 2 i osób zdrowych, badaniu poddano 25 chorych na cukrzycę typu 2 leczonych dietą i metforminą i/lub pochodnymi sulfonilomocznika oraz 40 zdrowych osób dobranych pod względem wieku,

Tabela 1. Podstawowa charakterystyka osób zdrowych i chorych na cukrzycę typu 2

	Chorzy na cukrzycę typu 2 (grupa otrzymująca placebo lub L-argininę)	Grupa chorych na cukrzycę typu 2	Osoby zdrowe
Płeć (M/K)	8/4	14/11	22/18
Wiek (lata)	57,8 ± 3,2	53,8 ± 2,0	56,3 ± 1,2
Masa ciała [kg]	67,0 ± 4,7	70,2 ± 2,3	70,0 ± 1,6
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	25,3 ± 0,9	26,1 ± 0,7	25,1 ± 0,4
Skurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]	124 ± 3	129 ± 2	129 ± 2
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]	70 ± 2	80 ± 4*	74 ± 2
Hemoglobina glikowana (%)	5,7 ± 0,1	7,2 ± 0,3*	4,9 ± 0,2†
Glikemia na czczo [mmol/l]	7,2 ± 0,2	7,9 ± 0,3*	5,6 ± 0,1†

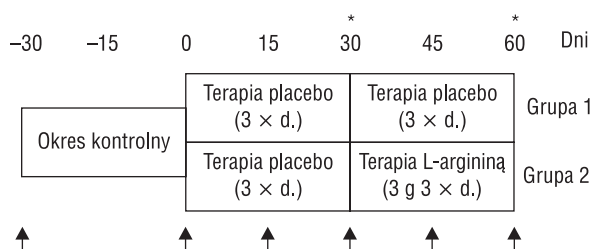
Dane przedstawiono jako średnie ± SEM, jeśli nie zaznaczono inaczej; \*p < 0,05 vs. chorzy na cukrzycę typu 2, przydzieleni do grupy otrzymującej L-argininę lub placebo; †p < 0,05 w obu grupach chorych na cukrzycę typu 2

płci, masy ciała i wskaźnika masy ciała (BMI, *body mass index*).

Tabela 1 pokazuje kliniczną i metaboliczną charakterystykę wszystkich osób biorących udział w badaniu. Nie znaleziono różnic w wartościach SBP, podczas gdy zaobserwowano znamienne wyższą glikemię na czczo i wyższe stężenie hemoglobiny glikowanej u chorych na cukrzycę typu 2 niż u osób zdrowych z grupy kontrolnej. Wartości glikemii na czczo, hemoglobiny glikowanej i DBP były niższe u osób przydzielonych do grupy placebo lub leczonych L-argininą niż u innych chorych na cukrzycę typu 2.

### Schemat badania

Badanie prowadzono przez 3 miesiące, metodą podwójnie ślepej próby (ryc. 1). W czasie pierwszego miesiąca wszystkich pacjentów leczono typową dietą, a następnie losowo przydzielono do dwóch 6-osobowych grup. Grupę pierwszą leczono dietą i placebo (doustnie 3 × d.) przez 2 miesiące. Drugą grupę leczono za pomocą diety i placebo (doustnie 3 × d.) przez miesiąc i dietą z dodatkiem L-argininy (aspar-



Rycina 1. Schemat badania; ↑ wizyta dietetyka, \*klamra euglikemiczno-hiperinsulinemiczna

tan L-argininy, doustnie 3 g 3 × d.) w drugim miesiącu badania. Dawka L-argininy była najniższą możliwą poprawiającą funkcję śródbłonna i niewpływającą na wydzielanie insuliny. Lek i placebo przygotowano dokładnie w ten sam sposób z użyciem 200 mg aspartamu.

Co 14 dni chorzy konsultowali się z dietetykiem, aby utrzymać stałą masę ciała.

Po pierwszym i drugim miesiącu terapii u pacjentów wykonano badanie metodą klamry euglikemiczno-hiperinsulinemiczną (wlew insuliny 25 mJ./kg/h) [12]. Trzy dni przed testem wszyscy pacjenci stosowali taką samą dietę, aby zmniejszyć różnice w podaży różnych składników odżywczych. Zadbano zwłaszcza o identyczną podaż azotu białka zwierzęcego i roślinnego w obu grupach. Miało to ograniczyć wpływ azotu zawartego w diecie na produkcję i klirens NO, co mogłoby zafałszować wyniki badania.

Po całonocnym poście i 12 godzin po ostatnim przyjęciu placebo bądź L-argininy wprowadzono do żyły grzbietowej dłoni kaniulę o średnicy 20 G (*Abbotath T, Abbotath, Ireland LTD, Sling, Ireland*). Dłoń utrzymywano w temperaturze 55°C w celu arterializacji kolejnych próbek krwi. Następnie wprowadzono igłę 20 G do dużej żyły w zgięciu łokciowym do podania 20-procentowego roztworu dekstrozy.

Oceniono również insulinowrażliwość u 10 zdrowych osób, które poddano identycznej procedurze.

### Ocena hormonalna i metaboliczna

Przed rozpoczęciem badania za pomocą klamry euglikemicznej pobrano próbki krwi w celu oznaczenia stężenia glukozy w surowicy, insuliny, cGMP (drugi przekaźnik NO) i potasu.

Przy każdym wykonaniu badania metodą klamry próbki krwi w celu oznaczenia glikemii pobierano co 5 minut od rozpoczęcia badania, natomiast próbki do oznaczenia insuliny co 30 minut.

Do oceny zmian w insulinowrażliwości użyto wartości M i wartości szybkości wykorzystania glukozy, które oceniano metodą izotopową przez początkowy (5 mg/kg) ciągły (0,05 mg/kg/min) wlew  $[6,6-^2\text{H}_2]$  glukozy, co opisano we wcześniejszych doniesieniach [13–16].

### Badania hemodynamiczne

W dniu badania rano mierzono przepływ krwi przez przedramię [17] oraz SBP i DBP po co najmniej 30-minutowym odpoczynku w pozycji leżącej na początku badania metodą klamry euglikemicznej i po jej zakończeniu.

Całkowity opór naczyniowy przedramienia obliczano, dzieląc średnie ciśnienie tętnicze przez przepływ krwi przez przedramię. Otrzymaną wartość podawano w ustalonych jednostkach.

### Oznaczenia

Stężenie glukozy oznaczano metodą wykorzystującą reakcję oksydacji glukozy (*Yellow Springs Instrument, Yellow Spring, OH*). Stężenie hemoglobiny glikowanej oceniano, wykorzystując komercyjnie dostępny zestaw (*Unimate, Roche*). Stężenie insuliny w surowicy (współczynnik zmienności [CV] w badaniu wynosi 3%, a między badaniami CV — 5%) oceniano metodą immunoenzymatyczną (*IMX, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL*), stężenie C-peptydu w surowicy (CV w badaniu 2,5%, między badaniami CV — 5%) — oznaczono metodą radioimmunologiczną za pomocą zestawu firmy *Medical System* (Genoa, Italy), a stężenie GMP mierzono metodą radioimmunologiczną za pomocą zestawu firmy *Amersham Interna-*

*tional, (Buckinghamshire, UK)*. Ocenę gromadzenia izotopu  $[6,6-^2\text{H}_2]$  glukozy przeprowadzono za pomocą gazowej spektrometrii masowej, według opisów we wcześniejszych publikacjach [15].

### Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki przedstawiono jako średnie  $\pm$  odchylenie standardowe (SEM) w każdym przedziale czasowym. Grupy porównano, stosując test *t*-Studenta, natomiast porównania wewnątrz grup dokonano za pomocą analizy wariancji, a jeśli było to wymagane, za pomocą testu Scheffe F. W niektórych przypadkach zastosowano również analizę regresji liniowej. Poziom znamienności  $< 0,05$  uznano za istotny statystycznie.

### Wyniki

Wyniki w tabeli 2 wskazują na brak różnic w wartościach masy ciała, stężenia hemoglobiny glikowanej, stężenia potasu, DBP i częstości akcji serca w obu grupach. Z kolei SBP nie uległo zmianie w grupie 1, podczas gdy w grupie leczonej L-argininą obserwowano istotny spadek SBP ( $128 \pm 4$  vs.  $110 \pm 3$  mm Hg;  $p < 0,05$ ) (tab. 2).

### Wartości przed wykonaniem badania metodą klamry metabolicznej

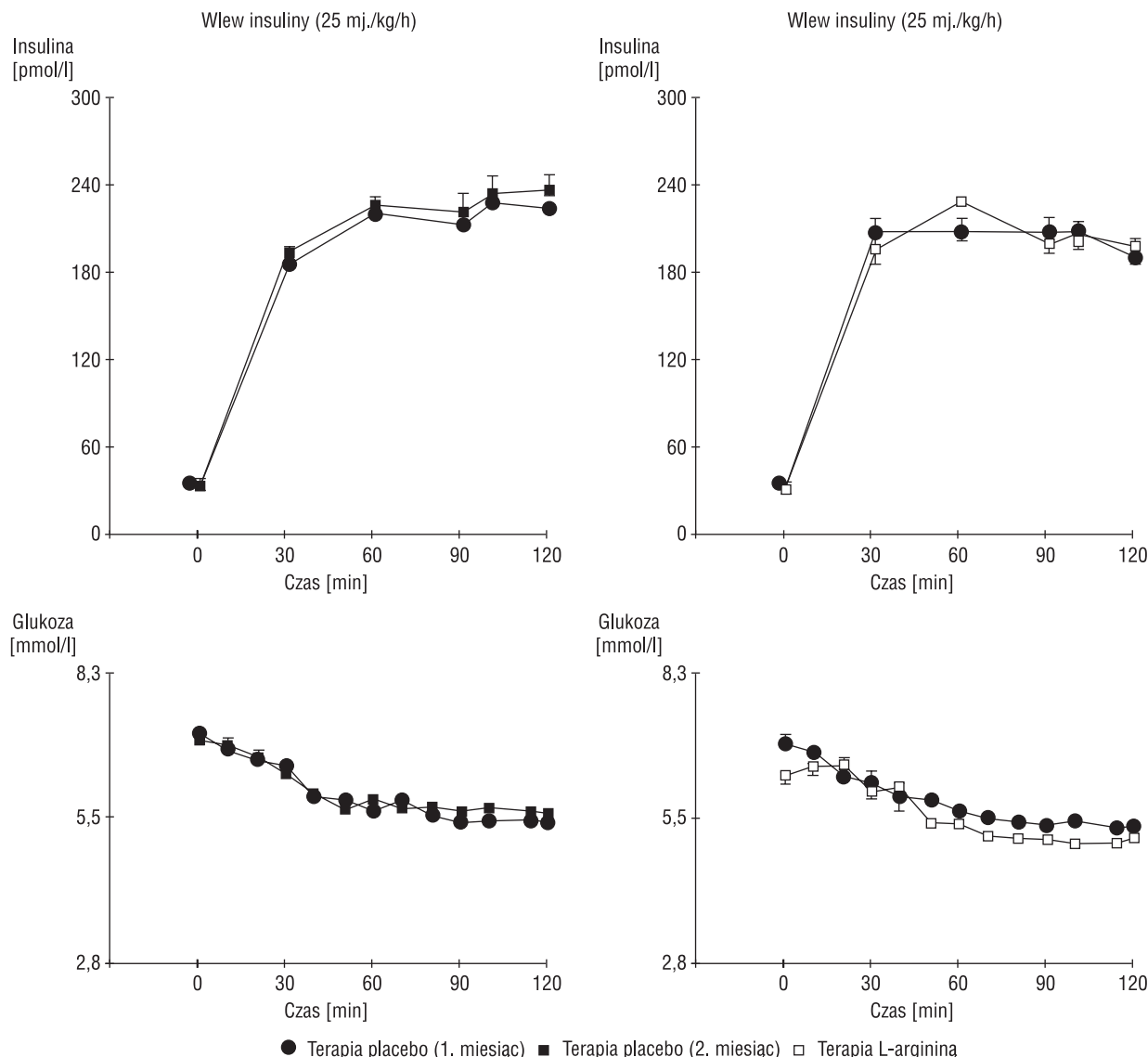
W grupie 1 podczas 2-miesięcznego podawania placebo nie zmieniły się: podstawowe stężenie glukozy i insuliny w surowicy (ryc. 2), stężenie C-peptydu (z  $0,68 \pm 0,04$  do  $0,7 \pm 0,09$  nmol/l; NS), endogenna produkcja glukozy, osoczowe stężenie cGMP, przepływ krwi i obwodowy opór obwodowy (tab. 3).

W grupie 2, w porównaniu z grupą przyjmującą placebo, L-arginina nie wpłynęła na stężenie glukozy, stężenie insuliny (ryc. 2) i C-peptydu (z  $0,71 \pm$

Tabela 2. Dane kliniczne i antropometryczne po terapii placebo i L-argininą w grupie 1 i 2

	Grupa 1		Grupa 2	
	1. miesiąc placebo	2. miesiąc placebo	1. miesiąc placebo	2. miesiąc L-arginina
Masa ciała [kg]	68,2 $\pm$ 6,0	68,0 $\pm$ 6,1	74,1 $\pm$ 5,7	74,3 $\pm$ 5,9
Skurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]	120 $\pm$ 4	120 $\pm$ 5	128 $\pm$ 4	110 $\pm$ 3*
Rozkurczowe ciśnienie tętnicze [mm Hg]	71 $\pm$ 3	67 $\pm$ 3	70 $\pm$ 3	67 $\pm$ 2
Częstość akcji serca [uderzenia/min]	67 $\pm$ 3	71 $\pm$ 4	70 $\pm$ 2	66 $\pm$ 3
Hemoglobina glikowana (%)	5,8 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,2	5,5, $\pm$ 0,2
Stężenie potasu [mmol/l]	4,12 $\pm$ 0,15	4,13 $\pm$ 0,15	3,98 $\pm$ 0,11	4,01 $\pm$ 0,08

Dane podano jako średnia  $\pm$  SEM; \* $p < 0,05$  vs. 1 miesiąc placebo



**Rycina 2.** Stężenie insuliny i glukozy podczas badania metodą klamry euglikemiczno-hiperinsulinemicznej w grupie 1 (wykresy po lewej stronie) i 2 (wykresy po prawej stronie)

$\pm 0,09$  do  $0,62 \pm 0,06$  nmol/l, NS) w osoczu. Endogenna produkcja glukozy zmniejszyła się o 9,3% (z  $18,0 \pm 1,3$  do  $16,4 \pm 0,9$   $\mu$ mol/kg/min;  $p = 0,07$ ) (tab. 3). W tym samym czasie zaobserwowano istotny wzrost osoczowego stężenia cGMP o 60,5% (z  $2,76 \pm 0,35$  do  $4,43 \pm 0,54$  nmol/l;  $p < 0,03$ ), a podstawowy przepływ krwi w przedramieniu wzrósł o 36% (z  $2,19 \pm 0,26$  do  $3,01 \pm 0,22$  ml/100 ml/min;  $p < 0,02$ ) (tab. 3). Odpowiednio naczyniowy opór obwodowy zmalał z  $43,0 \pm 3,9$  do  $27,6 \pm 1,9$  j. m. ( $p < 0,01$ ) (tab. 3).

Zaobserwowano pozytywną korelację podstawowego stężenia cGMP z podstawowym przepływem krwi ( $r = 0,58$ ;  $p < 0,003$ , dane niepublikowane) i negatywną korelację z podstawową endogenną

produkcją glukozy ( $r = -0,41$ ;  $p < 0,05$ ; dane niepublikowane).

Analiza różnic pomiędzy grupami, w których stosowano dwa schematy leczenia, wykazała w grupie 2 znaczący wzrost stężenia cGMP ( $p < 0,001$ ) i przepływu krwi w przedramieniu ( $p < 0,02$ ) (tab. 3) w porównaniu z grupą 1.

Stężenie krążącego cGMP było podobne w grupie 1 i 2 przyjmującej placebo, a w grupie chorych na cukrzycę typu 2 było istotnie niższe niż u osób zdrowych z grupy kontrolnej (odpowiednio  $2,6 \pm 0,22$  i  $2,72 \pm 0,31$  vs.  $4,93 \pm 0,33$  nmol/l;  $p < 0,001$ ). Po leczeniu L-argininą stężenie cGMP wzrosło, osiągając wartość stwierdzaną u osób zdrowych ( $4,43 \pm 0,54$  vs.  $4,93 \pm 0,33$  nmol/l; NS).

Tabela 3. Zmiany obwodowej i wątrobowej insulinowrażliwości i wskaźników naczyniowych podczas terapii placebo i L-argininą w obu grupach chorych w porównaniu z osobami zdrowymi stanowiącymi grupę kontrolną

	Grupa 1			Grupa 2			Osoby zdrowe
	1. miesiąc placebo	2. miesiąc placebo	Różnica*	1. miesiąc placebo	2. miesiąc L-arginina	Różnica*	
Wartości wyjściowe							
Glikemia [mmol/l]	7,3 ± 0,1	7,3 ± 0,2	-0,03 ± 0,15	7,0 ± 0,3	6,4 ± 0,4	-0,52 ± 0,24	5,0 ± 0,2†
Endogenna produkcja							
glukozy [ $\mu$ mol/kg/min]	17,8 ± 1,3	17,8 ± 1,4	+0,2 ± 0,6	18,0 ± 1,3	16,4 ± 0,9	-1,7 ± 0,8	11,3 ± 1,3†
cGMP [nmol/l]	2,43 ± 0,27	2,44 ± 0,25	+0,01 ± 0,07	2,76 ± 0,35	4,43 ± 0,54‡	+1,67 ± 0,52§	4,93 ± 0,33†
Przepływ krwi przez przedramię							
[ml/100 ml/min]	2,03 ± 0,26	2,11 ± 0,23	+0,09 ± 0,07	2,19 ± 0,26	3,01 ± 0,22‡	+0,82 ± 0,18	2,87 ± 0,24
Obwodowy							
opór naczyniowy [UI]	46,0 ± 4,9	43,3 ± 5,2	-2,7 ± 3,6	43,0 ± 3,9	27,6 ± 1,9‡	-15,3 ± 3,0	31,4 ± 2,8
Wartości w czasie badania metodą klamry							
Stała wartość glikemii							
	5,7 ± 0,2	5,7 ± 0,3	+0,08 ± 0,04	5,4 ± 0,1	5,2 ± 0,2	-0,30 ± 0,12	5,0 ± 0,1†
Endogenna produkcja							
glukozy [ $\mu$ mol/kg/min]	6,22 ± 1,16	6,77 ± 0,61	+0,50 ± 1,93	6,11 ± 0,33	4,29 ± 0,39‡	-2,09 ± 0,61	4,96 ± 0,18†
Wartość M [ $\mu$ mol/kg/min]							
	11,3 ± 2,0	11,7 ± 1,6	+0,39 ± 1,10	11,3 ± 1,1	15,1 ± 1,3‡	+3,96 ± 0,77	24,2 ± 0,7†
Przepływ krwi przez przedramię							
[ml/100 ml/min]	2,46 ± 0,26	2,36 ± 0,24	-0,10 ± 0,35	2,80 ± 0,28	3,32 ± 0,24	+0,52 ± 0,11	3,10 ± 0,29
Obwodowy							
opór naczyniowy [UI]	37,1 ± 3,4	37,7 ± 3,8	+1,19 ± 5,28	32,4 ± 3,5	29,6 ± 5,3	-2,68 ± 3,89	28,3 ± 2,5

Dane przedstawiono jako średnie  $\pm$  SEM. \*Ujemne różnice odpowiadają spadkowi, a dodatnie wzrostowi wartości zmiennych po terapii; †p < 0,01 vs. grupa 1 i 2; ‡p < 0,05 vs. grupa placebo w 1 miesiącu, §p < 0,001 vs. grupa 1; ||p < 0,05 vs. grupa 1

Podstawowa endogenna produkcja glukozy w obu grupach była wyższa niż u zdrowych osób przed i po terapii L-argininą (tab. 3).

#### Klamra euglikemiczno-hiperinsulinemiczna

W czasie pierwszej godziny testu glikemia osiągnęła wartości docelowe (5,0–5,5 mmol/l) i była utrzymywana przez cały czas jego trwania, a stężenie insuliny osiągnęło *plateau* na poziomie 210–240 pmol/l w obu badanych grupach (ryc. 2).

W grupie 1 obwodowa i wątrobowa insulinowrażliwość i przepływ krwi przez przedramię nie zmieniły się w czasie badania (tab. 3). W grupie 2 L-arginina znamienne zwiększyła wartość M o 34% (p < 0,01), w stosunku do pierwszego miesiąca podawania placebo (tab. 3), podczas gdy endogenna produkcja glukozy znacznie się zmniejszyła (p < 0,02) (tab. 3). Również przepływ przez przedramię po leczeniu L-argininą był wyższy niż w czasie podawania placebo (3,32  $\pm$  0,24 vs. 2,8  $\pm$  0,28 ml/100 ml/min; p < 0,05) (tab. 3).

Analiza różnic między dwiema grupami o innych schematach leczenia wykazała, że w grupie 2 znacznie poprawiła się wartość M (p < 0,03) i wątrobowa insulinowrażliwość (p < 0,05) w porównaniu z grupą 1 (tab. 3).

Wartość M była znamienne niższa, a endogenna produkcja glukozy znamienne wyższa w grupie 1 i 2, przed i po leczeniu, w porównaniu z osobami zdrowymi stanowiącymi grupę kontrolną.

#### Wnioski

Celem badania była odpowiedź na pytanie, czy długotrwałe podawanie L-argininy, działając przez normalizację szlaku NO/cGMP, poprawia obwodową i wątrobową wrażliwość na insulinę u 12 szczupłych chorych z dobrze kontrolowaną cukrzycą typu 2. Badanie autorów jako pierwsze wykazało, że wzrost dostępności NO, spowodowany podawaniem L-argininy, może powodować zwiększenie insulinowrażliwości, nawet jeśli nie osiąga się stanu prawidłowego.

Mimo że w niniejszym badaniu nie kontrolowano rzeczywistej suplementacji L-argininy badaniem stężenia argininy w surowicy, zanotowane znamienne zmniejszenie oporu obwodowego [18] i wzrost stężenia cGMP [19] — drugiego przekaźnika NO, potwierdza, że pacjenci systematycznie stosowali terapię. Obecnie uważa się, że NO wchodzi w reakcję z rozpuszczalną formą cyklicznej guanylanowej, prowadząc do wzrostu stężenia cGMP [19–21]. Ostatnio Albert i wsp. [22] wykazali bliski związek między NO a cGMP — podawany wżewnie NO powodował 3-krotny wzrost stężenia cGMP [22]. Warto zauważyć, iż stężenie krążącego cGMP jest znacznie niższe u chorych na cukrzycę typu 2 niż u osób zdrowych, a stosowanie L-argininy normalizuje je. Zmniejszone stężenie krążącego cGMP opisano już u krewnych pierwszego stopnia osób chorych na cukrzycę typu 2, niezależnie do stopnia upośledzenia tolerancji glukozy [23].

Najprostszym wytłumaczeniem wyników jest propozycja związku insulinooporności ze zmniejszoną zdolnością NO do pobudzania tworzenia swoich przekaźników, co prowadzi do zmniejszenia syntezy cGMP, a także względnego zmniejszenia zdolności insuliny do rozszerzania naczyń krwionośnych. Mimo że są to tylko spekulacje, są one zgodne z wynikami badań autorów i wnioskami Petrie'go i wsp. [3], dotyczącymi związku między insulinoopornością a odpowiedzią śródbłonna na zahamowanie syntezy NO, jak również dowodami zmniejszonej odpowiedzi wazodylatacyjnej u osób z insulinoopornością [4]. Znamienna korelacja pomiędzy podstawowym stężeniem cGMP a przepływem krwi w przedramieniu potwierdza tę hipotezę.

Wyniki opisanego badania są odmienne od poprzednich, które wykazywały brak poprawy wykorzystania glukozy po dożylnym wlewie substancji o właściwościach naczyniorozszerzających zależnych od funkcji śródbłonna (jak adenozylna czy bradykinina) pomimo zwiększenia przepływu krwi w przedramieniu [24, 25]. Różnica w wynikach badań autorów i wcześniejszych doniesień [24, 25] może być konsekwencją różnic w metodyce, na przykład krótkiego, kilkugodzinnego, dożylnego wlewu bradykininy [24] lub adenozylny [25]. W prezentowanym badaniu L-argininę podawano stale przez 30 dni.

Z kolei istnieje prawdopodobieństwo, że wzrost dostępności NO może także poprawiać metabolizm glukozy niezależnie od swoich właściwości naczyniorozszerzających. W zasadzie zauważono znamienne odwrotną zależność pomiędzy stężeniem cGMP a podstawową endogenną syntezą glukozy. Powyższą hipotezę poparły najnowsze badania na zwierzętach i *in vitro*, które wykazały obecność syntazy NO (NOS)

w mięśniach szkieletowych [26] i bezpośrednio działanie NO na mięśniowy metabolizm glukozy [27]. W zasadzie zahamowanie NOS przez N-monometylo-L-argininę hamuje transport glukozy w inkubowanych komórkach mięśni szkieletowych [28]. Stwierdzono również, że nitroprusydek sodu, dawca NO, zwiększa transport glukozy zarówno w obecności, jak i bez udziału insuliny *in vitro* w izolowanym ze szczurów mięśniu długim prostowniku palców [29]. Okazuje się, że u insulinoopornych szczurów Zucker fa/fa występuje defekt szlaku metabolicznego NO, a podawanie Zaprinastu, selektywnego blokera fosfodiesterazy cGMP, zwiększa zarówno stężenie cGMP, jak i wychwyt glukozy w mięśniach szkieletowych [28]. Dodatkowo ostatnio autorzy wykazali, że L-arginina może zwiększać aktywność glukokinazy w izolowanych komórkach wątroby szczura [30].

Mimo że stosowanie L-argininy przywracało do normy aktywność NO (mierzoną stężeniem cGMP), nie umożliwiło przywrócenia prawidłowego poziomu wrażliwości na insulinę u chorych na cukrzycę typu 2. Sugeruje to, że patogenezą insulinooporności wśród tych pacjentów jest wieloskładnikowa, zatem należy brać pod uwagę czynniki genetyczne, środowiskowe i metaboliczne.

Wyniki niniejszego badania są zgodne z rezultatami badań przeprowadzonych na zwierzętach *in vitro* i *in vivo*, które wykazały, że mimo iż NO jest mediatorem pobudzanej przez insulinę syntezy cGMP w komórkach wyspowych trzustki, następujący wzrost stężenia cGMP nie koreluje z ilością wydzielonej insuliny [31]. Ponadto, Pueyo i wsp. [19] wykazali, że podawanie *in vivo* estru metylowego N $\omega$ -nitro-L-argininy powoduje zmniejszenie zależnej od NO produkcji cGMP, nie wpływając na wydzielanie insuliny.

Ponieważ miesięczną terapię L-argininą poprzedzono miesięcznym stosowaniem jedynie diety, można polemizować z twierdzeniem, że poprawa insulinooporności zależała od przedłużonej terapii dietą. W grupie 1 nie zauważono żadnych znaczących skutków przedłużonego stosowania diety. Dodatkowo masa ciała pacjentów nie zmieniła się 6 miesięcy przed i w czasie badania, a co 2 tygodnie odbywały się wizyty u dietetyka w celu utrzymania stałej diety przez cały okres badania.

Podsumowując, przeprowadzone badanie wykazało, że długotrwałe stosowanie L-argininy znacznie poprawia obwodową i wątrobową wrażliwość na insulinę wśród chorych na cukrzycę typu 2. Konieczne są dalsze badania z zastosowaniem dłuższego okresu podawania leku, które potwierdziłyby wstępne wyniki.

## PIŚMIENICTWO

1. Baron A.D., Steinberg H.O., Chaker H., Leaming R., Johnson A., Brechtel G.: Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation contributes to both insulin sensitivity and responsiveness in lean humans. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 786–792.
2. Baron A.D., Steinberg H., Brechtel G., Johnson A.: Skeletal muscle blood flow independently modulates insulin-mediated glucose uptake. *Am. J. Physiol.* 1994; 266: E248–E253.
3. Petrie J.R., Ueda S., Webb D.J., Elliott H.L., Connell G.M.C.: Endothelial NO production and insulin sensitivity: a physiological link with implications for pathogenesis of cardiovascular disease. *Circulation* 1996; 93: 1331–1333.
4. Laakso M., Edelman S.V., Brechtel G., Baron A.D.: Impaired insulin-mediated skeletal muscle blood flow in patients with NIDDM. *Diabetes* 1992; 41: 1076–1083.
5. Yki-Jarvinen H., Utriainen T.: Insulin-induced vasodilatation: physiology or pharmacology? *Diabetologia* 1998; 41: 369–379.
6. Jun T., Wennmalm A.: NO-dependent and -independent elevation of plasma levels of insulin and glucose in rats by L-arginine. *Br. J. Pharmacol.* 1994; 113: 345–348.
7. Tsao P.S., Theilmeier G., Singer A.H., Leung L.L., Cooke J.P.: L-Arginine attenuates platelet reactivity in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler. Thromb.* 1994; 14: 1529–1533.
8. Tsao P.S., McEvoy L.M., Drexler H., Butcher E.C., Cooke J.P.: Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L-arginine. *Circulation* 1994; 89: 2176–2182.
9. Cooke P.J., Singer A.H., Tsao P.S., Zera P., Rowan R.A., Billingham M.E.: Anti-atherogenic effects of L-Arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 1168–1172.
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: 1989–1994.
11. Palmer J.P., Walter R.M., Ensink J.W.: Arginine-stimulated acute phase of insulin and glucagon secretion in normal men. *Diabetes* 1975; 24: 735–740.
12. De Fronzo R.A., Tobin J.D., Andres R.: Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.* 1979; 237: E214–E223.
13. Steel R.: Influence of glucose loading and of injected insulin on hepatic glucose output. *Ann. NY Acad. Sci.* 1959; 82: 420–430.
14. Cobelli C., Toffolo G., Bier D.M., Nosadini R.: Models to interpret kinetic data in stable isotope tracer studies. *Am. J. Physiol.* 1987; 253: E551–E564.
15. Magni F., Monti L.D., Brambilla P. i wsp.: Determination of plasma [6,6-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] glucose enrichment by a simple and accurate gas chromatographic-mass spectrometric method. *J. Chromatogr.* 1987; 573: 127–131.
16. Finegood D.T., Bergman R.N., Vranic M.: Estimation of endogenous glucose production during hyperinsulinemic-euglycemic clamp: comparison of unlabelled and labeled exogenous glucose infusates. *Diabetes* 1987; 36: 914–924.
17. Piatti P.M., Monti L.D., Pacchioni M., Pontiroli A.E., Pozza G.: Forearm insulin and non-insulin-mediated glucose uptake and muscle metabolism in man: role of free fatty acids and blood glucose levels. *Metabolism* 1991; 40: 926–933.
18. Higashi Y., Oshima T., Sasaki N. i wsp.: Relationship between insulin resistance and endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *Circulation* 1995; 25: 898–902.
19. Pueyo M.E., Gonzalez W., Pussard E., Arnal J.F.: Insulin secretion in rats with chronic nitric oxide synthase blockade. *Diabetologia* 1994; 37: 879–884.
20. Boger R.H., Bode-Boger S.M., Frolich J.C.: The L-arginine/nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis* 1996; 127: 1–11.
21. Trovati M., Anfossi G., Masucco P. i wsp.: Insulin stimulates NO synthesis in human platelets and, through nitric oxide, increases platelet concentrations of both guanosine-3', 5'-cyclic monophosphate and adenosin-3', 5'-cyclic monophosphate. *Diabetes* 1997; 46: 742–749.
22. Albert J., Wallén H., Li N., Frostell C., Hjemdahl P.: Neither endogenous nor inhaled nitric oxide influences the function of circulating platelets in healthy volunteers. *Clin. Sci.* 1999; 97: 345–353.
23. Piatti P.M., Monti L.D., Zavaroni I. i wsp.: Alterations in nitric oxide/cGMP pathway in non diabetic siblings of patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85: 2416–2420.
24. Natali A., Bonadonna R., Santoro D. i wsp.: Insulin resistance and vasodilation in essential hypertension: studies with adenosine. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 1570–1576.
25. Nuutila P., Raitakari M., Laine H. i wsp.: Role of blood flow in regulating insulin-stimulated glucose uptake in humans: studies using bradykinin, [<sup>15</sup>O]water, and [<sup>18</sup>F]fluorodeoxyglucose and positron emission tomography. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 1741–1747.
26. Nakane M., Schmidt H.H.H.W., Pollock G.S., Forstermann U., Murad F.: Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett* 1993; 316: 175–180.
27. Balon T.W., Nadler J.L.: Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *J. Appl. Physiol.* 1994; 77: 2519–2521.
28. Balon T.W., Nadler J.L.: Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 1997; 82: 359–363.
29. Young M., Leighton B.: Evidence for altered sensitivity of nitric oxide/cGMP signaling cascade in insulin resistant skeletal muscle. *Biochem. J.* 1998; 329: 73–79.
30. Monti L.D., Valsecchi G., Costa S. i wsp.: Effects of endothelin-1 and nitric oxide on glucokinase activity in isolated rat hepatocytes. *Metabolism* 2000; 49: 1–9.
31. Jones P.M., Persaud S.J., Bjaaland 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.