

The influence of oral supplementation of L-arginine on intermittent claudication in patients with peripheral arterial disease of the lower extremities

Wpływ doustnej suplementacji L-argininy na chromanie przestankowe u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych

Maciej Micker¹, Hanna Krauss², Jarosław Ast³, Paweł Chęciński¹, Anna Jabłeczka³

¹Department of General and Vascular Surgery and Angiology of K. Marcinkowski Medical University, Poznan, Poland (Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu)

²Department of Physiology of K. Marcinkowski Medical University, Poznan, Poland (Katedra i Zakład Fizjologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu)

³Department of Clinical Pharmacology of K. Marcinkowski Medical University, Poznan, Poland (Zakład Farmakologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu)

Abstract

Background. More and more data indicate that the increase of production of free radicals by the endothelium with simultaneously decreasing synthesis and/or increasing nitric oxide (NO) degradation is the basis of changes in atheromatous vessel structure and reactivity. It is suggested that the administration of L-arginine to patients with NO deficiency is the rational method both of increasing NO production by the endothelium and decreasing the free radical release. In the last year it has been proven that this therapeutic procedure could be successful in patients with atherosclerotic ischaemia of lower extremities. The aim of this study was the estimation of the influence of 28-day L-arginine oral supplementation on intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease.

Material and methods. The authors studied 48 patients (25 men/23 women) with peripheral arterial disease — Fontaine II. They were randomly divided into two groups: group I — 24 patients receiving L-arginine 3 × 4 g/day and group II — 24 patients receiving placebo 3 × 4 g/day. During the study patients were under strict clinical observation, the aim of which was to evaluate drug tolerance and to observe possible adverse effects of L-arginine used in therapy. During the study at 0 h, after 3 h, and on the 7th, 14th, and 28th days subjective and objective examinations were conducted with evaluation of pain-free distance and total walking distance.

Results. After L-arginine treatment clinical improvement was observed in all patients, such as elongation of pain-free walking distance (from 80 m at the beginning to 438 m at the end) and total walking distance (from 158 m to 687 m), while there was no clinical improvement in patients with placebo.

Conclusions. In patients with peripheral arterial occlusive disease Fontaine stage II oral supplementation of L-arginine results in elongation of pain-free and total walking distance.

Key words: L-arginine, NO, intermittent claudication

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr med. Maciej Micker
Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii AM
ul. Dojazd 34, Poznań, Poland
tel: +48 (61) 846 45 31, fax: +48 (61) 846 45 30

Streszczenie

Wstęp. Coraz więcej danych wskazuje, że zwiększone wytwarzanie wolnych rodników przez śródbłonek z równoczesnym zmniejszeniem syntezy i/lub zwiększoną degradacją tlenu azotu (NO) leży u podstaw zmian w strukturze i reaktywności miażdżycowo zmienionych naczyń. Sugeruje się, że podanie L-argininy osobom z niedoborem NO jest racjonalną metodą zarówno zwiększania wytwarzania NO przez śródbłonek, jak i zmniejszenia uwalniania wolnych rodników. W ostatnich latach wykazano, że takie postępowanie lecznicze może być skuteczne u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych. Celem pracy był ocena wpływu 28-dniowej doustnej suplementacji L-argininą na chromanie przestankowe u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych.

Materiał i metody. Badano 48 chorych leczonych w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń Akademii Medycznej w Poznaniu z rozpoznaną miażdżycą tętnic kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a. Chorych losowo podzielono na dwie grupy: I grupa chorych otrzymywała L-argininę w dawce 3 × 4 g na dobę, natomiast II grupa — placebo w dawce 3 × 4 g na dobę. Chorych poddano miesięcznej obserwacji klinicznej w celu określenia tolerancji terapii i odnotowania ewentualnych działań niepożądanych. W w 0., 7., 14. i 28. dniu u każdego chorego przeprowadzono pełne badanie podmiotowe i przedmiotowe z określeniem dystansu przejścia bezbólowego i maksymalnego.

Wyniki. Po podaniu L-argininy nastąpiła znaczna poprawa kliniczna w postaci wydłużenia dystansu przejścia bezbólowego (od 80 m na początku badania do 438 m w końcowym punkcie obserwacji) i maksymalnego (od 158 m w 0. dniu badania do 687 m w 28. dniu), podczas gdy w grupie chorych otrzymujących placebo takiej korzyści nie odnotowano.

Wnioski. Doustna suplementacja L-argininy w dawce 3 × 4 g na dobę istotnie wydłuża dystans przejścia bezbólowego i maksymalnego u chorych z chromaniem przestankowym.

Słowa kluczowe: L-arginina, NO, chromanie przestankowe

Introduction

Intermittent claudication is the leading cause of deterioration of quality of life in people with peripheral arterial disease. It is defined as a cramp-like pain in the calf upon walking, which usually disappears during rest, and which may lead to chronic fatigue of lower extremities. This condition is common amongst people with narrowed arteries in the leg which reduce the blood flow to the muscles [1]. This phenomenon underlies the pathomechanism of intermittent claudication which is currently seen as the first obvious symptom of diminished blood supply to lower extremities due to arterial disease.

Evaluation of changes in claudication severity is useful for monitoring disease progression and the effectiveness of treatment. Standardized conditions applied in the determination of the pain-free walking distance have enabled researchers to compare results and establish indications for conservative therapy and surgical treatment.

Unlike patients with critical limb ischemia, as manifested by rest pain and nonhealing ulcers, persons with symptoms of intermittent claudication are not at high risk of limb amputation. For that reason conservative treatment is the predominant approach in this group of patients and it leads to additional benefits, such as lo-

Wstęp

Chromanie przestankowe jest główną przyczyną pogorszenia jakości życia u osób z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych. Definiowane jako dyskomfort podczas chodzenia najczęściej objawia się bólem, bolesnymi skurczami mięśni łydki, a także przewlekłym zmęczeniem kończyn dolnych. Wymienione dolegliwości są wywoływane niedoborem krwi dopływającej do kurczących się mięśni [1], co leży u podstaw wyjaśnienia patomechanizmu chromania przestankowego (*claudicatio intermittens*). Obecnie chromanie przestankowe uważa się za jeden z pierwszych odnotowanych przez chorego objawów niedokrwienia kończyny dolnej, związanych ze zmianami w tętnicach.

Ocena zmiany nasilenia objawów chromania przestankowego jest pomocna w monitorowaniu przebiegu choroby i efektu leczenia miażdżycowego niedokrwienia. Stworzenie jednakowych warunków badania dystansu chromania umożliwiło badającym porównywanie wyników i ustalenie wskazań do ewentualnego leczenia zarówno zachowawczego, jak i operacyjnego.

Dominującą postacią leczenia chorych z chromaniem przestankowym jest terapia zachowawcza, między innymi zmniejszająca ryzyko wystąpienia groźnych powikłań układu krążenia, będących pochodną zmian

wered risk of serious cardiovascular complications due to coronary artery disease.

Only 18% of patients with intermittent claudication will require surgical intervention, and about 10% will undergo amputation as a result of limb-threatening ischemia developing within a 10-year follow-up period [2, 3].

At present there is no effective drug available which allows for a prominent prolongation of the pain-free walking distance. Currently prescribed medications do not provide 100% efficacy as perceived by patients, despite their proven effectiveness in alleviating ischemic symptoms.

Atherosclerotic changes in the arteries are the most frequent cause of limited blood supply to the lower extremities, manifesting as intermittent claudication.

The latest research on the pathogenesis of atherosclerosis has pointed to the pivotal role played by the endothelium. Endothelial cells which form the inner layer of the arterial intima [4] are crucial to the active local regulation of the blood flow.

The endothelium is seen as the largest endocrine organ due to its secretion of numerous active agents. According to the widely accepted Unified Theory of Human Cardiovascular Disease [5], it is endothelial dysfunction that appears at the outset of the disease. Atherosclerosis is featured by disrupted endothelium-dependent vasodilation [6], caused by depleted secretion of local vasodilating agents, such as nitric oxide (NO), prostacyclin and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). The endothelium is an important source of the following vasoconstricting factors: endothelins, thromboxane, reactive oxygen species and endothelium-derived vasoconstricting factor. A balance between vasoconstrictors and vasodilators is vital in maintaining vascular smooth muscle tone.

The mechanism of release and function of endothelium-derived relaxing factor (EDRF) were first described by Furchgott [7, 8]. Endothelium-derived relaxing factor is also called endogenous nitrate due to its ability to activate cyclic guanosine monophosphate (cGMP) in the vessel wall, enabling vasodilation [9]. In 1987 Moncada [10] showed that EDRF is identical to NO, released directly due to L-arginine oxidation.

L-arginine is a basic, semi essential amino acid. It can be synthesized *de novo*, yet its levels are not sufficient. In the tissues not generating urea, L-arginine is converted directly into L-citrulline releasing free nitric oxide (NO) (Figure 1) [11]. Until now, it has not been possible to elucidate all mechanisms responsible for the beneficial role of L-arginine in increasing NO release by endothelium. Taking into account all available data and the need for effective agents that would increase pain-

miążdżycowych w naczyniach wieńcowych. Tylko około 18% chorych z chromaniem przestankowym będzie wymagało interwencji chirurgicznej, a u około 10% dojdzie do konieczności amputacji skrajnie niedokrwionej kończyny w ciągu 10-letniej obserwacji [2, 3].

Nie ma natomiast na tyle skutecznego leku, który w jednoznaczny sposób wydłużałby dystans przejścia bezbólowego. Dotychczas stosowane środki, mimo udowodnionej skuteczności w łagodzeniu objawów niedokrwienia, nie mają 100-procentowej skuteczności ocenianej przez samych chorych.

Najczęstszą przyczyną niedokrwienia kończyn dolnych, objawiającego się chromaniem przestankowym, jest miażdżycza tętnic kończyn dolnych. W ostatnich badaniach nad patogenezą miażdżycy wskazano na znaczący udział błony wewnętrznej (endotelium) w rozwoju tej patologii. Komórki śródbłonna, jako najbardziej wewnętrzna warstwa błony wewnętrznej [4], odgrywają decydującą rolę w aktywnej miejscowej regulacji przepływu krwi. Śródbłonek wytwarzający czynniki aktywnie działające uważa się za największy organ wydzielania wewnętrznego u człowieka. Według powszechnie akceptowalnej zunifikowanej teorii patogenezы miażdżycы [5] to zaburzenie czynności śródbłonna jest pierwszym z etapów rozwoju choroby. Uważa się, że miażdżycza między innymi charakteryzuje się ograniczoną zdolnością naczyń do rozkurczu zależnego od endotelium [6]. Zjawisko to jest spowodowane przede wszystkim upośledzeniem wydzielania przez śródbłonek miejscowych czynników rozszerzających naczynia, do których należą tlenek azotu (NO), określane także jako śródbłonkowy czynnik rozszerzający naczynia (EDRF lub EDNO), prostacyklina i śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący (EDHF). Śródbłonek jest także źródłem substancji wazokonstrykcyjnych, w skład których wchodzi endotelina, tromboksan, wolne rodniki i śródbłonkowy czynnik kurczący. Równowaga pomiędzy wazokonstryktorami i wazodylatorami warunkuje odpowiednie napięcie naczyniowej błony mięśniowej.

Mechanizm uwalniania i czynność śródbłonkowego czynnika rozkurczającego naczynia (EDRF) opisał jako pierwszy zespół kierowany przez Furchgotta [7, 8]. Czynnik ten jest nazywany także endogennym nitratem dzięki swej zdolności do aktywacji cykazy guanylowej (cGMP) w ścianie naczynia, warunkującej rozkurcz naczyń [9]. Rok 1987 przyniósł rewolucyjne odkrycie Salvatora Moncady [10], który wykazał, że EDRF jest chemicznie tlenkiem azotu (NO), uwalnianym bezpośrednio w procesie oksydacji L-argininy.

L-arginina jest aminokwasem niezbędnym w żywieniu. Może być syntetyzowana *de novo* z glutaminy, soli kwasu glutaminowego i proliny, jednakże jej bio-

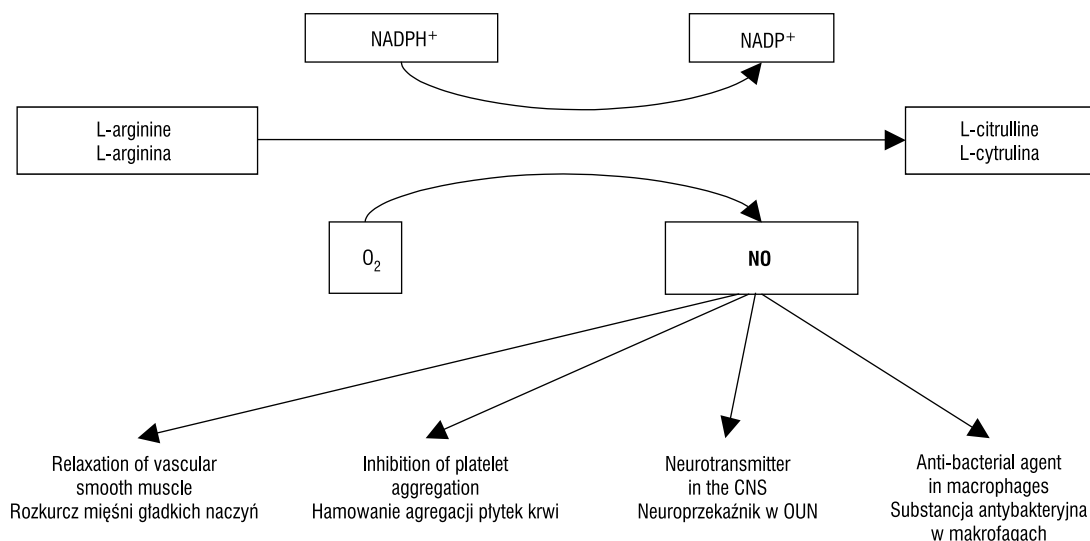


Figure 1. Synthesis and potential role of NO (in [11]); CNS — central nervous system

Rycina 1. Synteza NO i jego potencjalne działania (za [11]); OUN — ośrodkowy układ nerwowy

free walking distance in intermittent claudication due to peripheral arterial disease of the lower extremities, L-arginine was chosen for the study of its oral supplementation effects on pain-free (PFWD) and maximal (MDW) walking distance.

The aim of the study was the evaluation of the influence of 28-day oral supplementation of L-arginine on intermittent claudication in patients with peripheral arterial disease of the lower extremities.

Materials and methods

In total, 48 patients were enrolled in the study based on the following inclusion criterion — peripheral occlusive arterial disease of the lower extremities at Fontaine's stage II as diagnosed by patient history and physical examination.

All patients were treated at the Department of General and Vascular Surgery, Karol Marcinkowski University of Medical Sciences in Poznan, Poland.

Twenty-five participants of the study were men (52.08%) and 23 patients were women (47.91%). The study was designed as a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Patients were randomly assigned to receive either L-arginine (4 g tid) or placebo identical in terms of external appearance and taste (4 g tid).

All participants were required to submit a signed letter of informed consent for the trial. The research conducted was approved by the Karol Marcinkowski University of the Medical Sciences Scientific Research Ethics Committee.

synteza nie jest w pełni wystarczająca. W tkankach niewytwarzających mocznika L-arginina przechodzi bezpośrednio w cytrulinę z pominięciem ornityny, uwalniając wolny rodnik tlenku azotu (ryc. 1) [11].

Dotychczas nie poznano w pełni mechanizmów odpowiedzialnych za korzystny wpływ L-argininy na zwiększenie uwalniania tlenku azotu przez endotelium. Uwzględniając przytoczone informacje i potrzebę poszukiwania leku, który wydłużyłby dystans chromania przestankowego w miażdżycowym niedokrwieniu kończyn dolnych, podjęto próbę zbadania wpływu doustnej suplementacji L-argininą na odcinek przejścia bezbołowego (PFWD) i maksymalnego (MDW).

Celem pracy była ocena wpływu 28-dniowej doustnej suplementacji L-argininą na chromanie przestankowe u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych.

Materiał i metody

Badaniu poddano 48 chorych z rozpoznaniem miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych zaliczonym do II stopnia według klasyfikacji Fontaine'a w badaniu podmiotowym i przedmiotowym. Wszystkich chorych leczono w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. W grupie 48 pacjentów 25 osób stanowili mężczyźni (52,08%), a 23 osoby — kobiety (47,91%). Dwóch pacjentów otrzymywało leki zobojętniające treść żołądka (stosowane w odstępie 2 godzin od przyjęcia L-argininy), 17 badanych — statyny hipolipemizujące oraz 2 chorych — leki dermatologiczne

All patients with peripheral occlusive arterial disease of the lower extremities at Fontaine's stage II were included in the study unless they met the following exclusion criteria:

- serious kidney failure (serum creatinine > 400 mg/ml);
- serious liver failure (twofold increase in transaminase levels);
- diabetes mellitus;
- thyroid disease;
- electrolyte imbalance;
- neoplasm;
- systemic disease;
- malabsorption;
- psychiatric disorders;
- disorders necessitating inclusion of drugs not allowed in this trial;
- alcohol abuse;
- other circumstances that might pose any risk to the patient during the study.

Patients were allowed to take drugs from the following groups:

- antiplatelet drugs (ASA, ticlopidine, clopidogrel, indobufen);
- antacids (within 2 hours of L-arginine intake);
- vitamins (except for antioxidant vitamins);
- antibiotics or sulphonamides (infection during the study);
- dermatologic topical medications;
- methylxanthines;
- statins.

Both groups of patients underwent the following diagnostic procedures and tests:

- patient history;
- physical examination (with blood pressure measurement);
- additional tests (treadmill exercise duration, arteriography, if required).

Patients qualified for the study were hospitalized for the first week at the Surgery Department, receiving either 4 g of L-arginine tid (group I) or 4 g of placebo tid (group II). They were under close clinical supervision, aimed at establishing L-arginine tolerance on the one hand and detecting any side effects on the other.

The following tests were conducted in each patient at baseline, after 3 hours and on days 7, 14 and 28 of therapy: full history and physical examination with evaluation of walking distance until claudication (pain-free walking distance and maximal walking distance).

After 7 days in the hospital patients were sent home to continue oral L-arginine or placebo supplementation according to the established protocol. All patients were

ne stosowane zewnętrznie. Badanie miało charakter podwójnej ślepej próby, w której zarówno osoba badana, jak i badający nie wiedzieli, kto otrzymuje badany lek, a kto placebo. Chorzy otrzymywali L-argininę lub placebo doustnie w dawce 4 g 3 razy dziennie. Bez względu na udział chorego w badaniu było udzielenie pisemnej, świadomej zgody na uczestnictwo w nim. Badanie uzyskało pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Nie mogli w nim uczestniczyć pacjenci spełniający jakiegokolwiek z poniższych warunków wykluczenia:

- ciężka niewydolność nerek (stężenie kreatyniny w osoczu > 400 mg/ml);
- zaawansowane uszkodzenie wątroby (stężenie transaminaz 2-krotnie przekraczające normę);
- cukrzyca;
- zaburzenia funkcji tarczycy;
- istotne zaburzenia elektrolitowe;
- choroba nowotworowa;
- choroby układowe;
- zaburzenia wchłaniania;
- choroba psychiczna;
- stan pacjenta wymagający rozpoczęcia podawania leków niebędących na liście leków dozwolonych;
- nadużywanie alkoholu;
- inne uwarunkowania, które mogły stanowić jakiegokolwiek ryzyko dla pacjenta podczas przeprowadzania badania.

Pojawienie się w trakcie badania któregoś z wymienionych warunków stanowiło także kryterium natychmiastowego przerwania udziału pacjenta w badaniu.

Chorzy w trakcie badania mogli przyjmować leki z następujących grup:

- leki antyagregacyjne (kwas acetylosalicylowy, tiklopidyna, klopidogrel, indobufen);
- leki zobojętniające treść żołądka (stosowane w odstępie 2 godzin od przyjęcia L-argininy);
- preparaty witaminowe (z wyjątkiem witamin antyoksydacyjnych w dawkach leczniczych);
- antybiotyki lub sulfonamidy przy wystąpieniu infekcji w trakcie trwania badania;
- zewnętrznie stosowane leki dermatologiczne;
- metyloksantyny;
- statyny hipolipemizujące.

W obu grupach chorych przeprowadzono następujące badania:

- badanie podmiotowe;
- badanie przedmiotowe (z pomiarem ciśnienia tętniczego);
- badanie dodatkowe (badanie na bieżni, ewentualnie arteriografia).

counselled to modify their lifestyles, take more exercise and quit smoking.

Patients underwent further tests aimed at establishing treatment efficacy on days 7, 14 and 28 of therapy.

Pain-free walking distance was assessed on the horizontal Cambridge 9800 walking treadmill at 3.5 km/h and at a 12° incline.

In order to compare both patient groups with respect to quantitative variables, the t-test was used for variables with normal distribution and Wilcoxon-Mann-Whitney test for those not meeting normal distribution criteria. Normal distribution was determined with the Shapiro-Wilk test. Therapy efficacy was evaluated with Tukey's q-test. Statistically significant results were obtained for $p < 0.05$.

Results

Data acquired from both groups was analyzed statistically. The following variables were taken into account:

- pain-free walking distance (PFWD);
- maximum walking distance (MWD).

All patients completed the trial — 24 subjects in the L-arginine group (group I) and 24 in the placebo group (group II). During the study one patient exhibited dyspeptic symptoms which receded after taking an H₂-blocker. No other adverse effects were reported by any patient participating in the trial.

Patient's characteristics

The mean age of patients in group I (Table I) was 59.08 ± 8.79 years — range 42 to 74 years, in group II — 65.95 ± 7.57 years (range 53 to 79 years) and

Po zakwalifikowaniu do badania chorych przez pierwszy tydzień hospitalizowano w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Otrzymywali oni doustną postać L-argininy w dawce 3 razy dziennie po 4 g (grupa I) lub placebo w dawce 3 razy dziennie po 4 g (grupa II). W tym okresie pacjenci podlegali ścisłej obserwacji klinicznej w celu określenia tolerancji terapii i odnotowania ewentualnych działań niepożądanych.

Przed włączeniem L-argininy lub placebo, a także po 3 godzinach od przyjęcia pierwszych dawek preparatów i dalej w 7., 14. i 28. dniu terapii u każdego chorego przeprowadzono następujące badania: pełne badanie podmiotowe i przedmiotowe z określeniem dystansu chromania przestankowego (dystans przejścia do wystąpienia bólu i maksymalny dystans przejścia).

Po 7 dniach pobytu na oddziale chorego wypisywano do domu z zaleceniem dalszego przyjmowania L-argininy lub placebo według ustalonego schematu. Wszystkim chorym zalecono modyfikację trybu życia, trening ruchowy bez określenia ścisłych reguł oraz zaprzestanie palenia tytoniu. W 7., 14. i 28. dniu leczenia chorych ponownie poddawano badaniom w celu dokonania oceny efektów leczenia.

Dystans przejścia do występowania bólu (PFWD) mierzono na poziomej bieżni ruchomej Cambridge 9800 o przesuwie taśmy 3,5 km/h i kącie nachylenia 12°. W celu porównania obu grup użyto dla zmiennych ilościowych testu istotności t-Studenta dla zmiennych wykazujących rozkład normalny i testu Manna-Whitneya-Wilcoxon dla zmiennych, które nie spełniały rozkładu normalnego. Nor-

Table I. Patient characteristics

Tabela I. Charakterystyka chorych

Parameter Parametr	Group I (treatment) Grupa I (leczona) (n = 24)	Group II (placebo) Grupa II (placebo) (n = 24)	p
Height [cm] Wzrost [cm]	171.00 ± 6.83	171.79 ± 9.30	NS
Age [years] Wiek [lata]	59.08 ± 8.79	65.95 ± 7.57	0.05
Body mass [kg] Masa ciała [kg]	72.91 ± 9.29	77.29 ± 10.51	NS
BMI [kg/m ²]	24.88 ± 02.30	26.12 ± 2.27	NS
Women [n] Kobiety	12	11	NS
Men [n] Mężczyźni	12	13	NS
Women smoking cigarettes [n] Kobiety palące tytoń	4	5	NS
Men smoking cigarettes [n] Mężczyźni palący tytoń	7	8	NS

BMI — body mass index (wskaźnik masy ciała); NS — non significant (nieznamienne statystycznie)

Table II. Biochemical parameters**Tabela II.** Parametry biochemiczne

Parameter Parametr	Group I (treatment) Grupa I (leczone) (n = 24)	Group II (placebo) Grupa II (placebo) (n = 24)	p
Na [mmol/l]	139.95 ± 2.11	139.45 ± 3.42	NS
K [mmol/l]	4.17 ± 0.51	4.00 ± 0.24	NS
Hb [mmol/l]	8.85 ± 0.66	8.01 ± 0.67	< 0.05
TG [mmol/l]	2.03 ± 1.23	3.27 ± 0.54	< 0.05
Total cholesterol [mmol/l] Cholesterol całkowity [mmol/l]	6.36 ± 1.16	5.63 ± 0.67	< 0.05
HDL-cholesterol [mmol/l] Cholesterol frakcji HDL [mmol/l]	1.63 ± 0.35	1.56 ± 0.29	NS
LDL-cholesterol [mmol/l] Cholesterol frakcji LDL [mmol/l]	3.56 ± 0.50	3.19 ± 0.53	NS

NA — sodium (sód); K — potassium (potas); TG — triglycerides (triglicerydy); HDL — high density lipoproteines (cząsteczki o dużej gęstości); LDL — low density lipoproteines (cząsteczki o małej gęstości); NS — non significant (nieznamienne statystycznie)

this difference was statistically significant ($p < 0.05$). Males dominated both groups (L-arginine and placebo) — 13 men (54%) and 11 women (46%). Median weight and height in group I amounted to 72.91 ± 9.29 kg and 171.00 ± 6.83 cm and respective values for group II were 77.29 ± 10.51 kg and 171.79 ± 9.30 cm. Calculated BMI for group I was 24.88 ± 2.30 and 26.12 ± 2.27 for group II. There were no statistically significant discrepancies within all of the above-mentioned parameters.

Sodium (Na), potassium (K), haemoglobin (Hb), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), HDL and LDL cholesterol levels were determined in all patients (Table II). Both groups differed significantly in Hb ($p < 0.05$), total cholesterol ($p < 0.05$) and triglyceride levels ($p < 0.05$).

Evaluation of claudication distance

Pain-free and maximum walking distance evaluation was applied to the lower extremity which forced the patient to stop, or to the “worse extremity” if claudication affected both limbs.

At baseline Group I patients' pain-free walking distance on the treadmill was 80.40 ± 44.18 m and 158.95 ± 87.25 m until the moment when they had to stop due to unbearable pain (MWD).

Pain-free walking distance and maximum walking distance in the placebo group were 57.08 ± 27.30 m and 108.95 ± 50.90 m respectively (Table III and IV). There were no statistically significant differences between the groups.

Pain-free walking distance increased significantly in the group of patients taking L-arginine, which was not the case for the subjects enrolled in the group receiving

malność rozkładu określono przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Efektywność stosowanej terapii oceniono za pomocą testu istotności porównań wielokrotnych, czyli przy użyciu testu Tukeya. Uzyskane wyniki uznano za istotne statystycznie dla $p < 0,05$.

Wyniki

Uzyskane wyniki opisujące obydwie grupy poddano ocenie statystycznej. Analizie poddano dane dotyczące: — dystansu przejścia do wystąpienia pierwszego bólu (PFWD);

— dystansu przejścia maksymalnego (MWD);

Wszyscy chorzy ukończyli badanie — 24 chorych w grupie przyjmującej L-argininę (I grupa) i 24 w grupie otrzymującej substancję obojętną (II grupa). Podczas badania u I chorego z grupy I wystąpiły objawy dyspeptyczne (nudności, zgaga), które ustąpiły po podaniu blokerów H_2 . Żadna z pozostałych osób poddanych badaniu nie zgłaszała wystąpienia działań niepożądanych.

Charakterystyka chorych

Średni wiek chorych w grupie I (tab. I) wyniósł $59,08 \pm 8,79$ roku — zakres od 42 do 74 lat, a w grupie II: $65,95 \pm 7,57$ roku — zakres od 53 do 79 lat — i ta różnica była istotna statystycznie ($p < 0,05$). Zarówno w grupie osób przyjmujących L-argininę, jak i w grupie pacjentów otrzymujących substancję obojętną dominowali mężczyźni — 13 mężczyzn (54%) i 11 kobiet (46%). Mediany masy ciała i wzrostu w I grupie to odpowiednio $72,91 \pm 9,29$ kg i $171,00 \pm 6,83$ cm, natomiast w II grupie wynosiły one $77,29 \pm 10,51$ kg i $171,79 \pm 9,30$ cm. Obliczony ze wzoru wskaźnik masy ciała — BMI (masa ciała [kg]/wzrost [m^2]) — wyniósł

Table III. Pain-free walking distance (PFWD) w metrach**Tabela III.** Dystans przejścia do wystąpienia bólu (PFWD) in meters

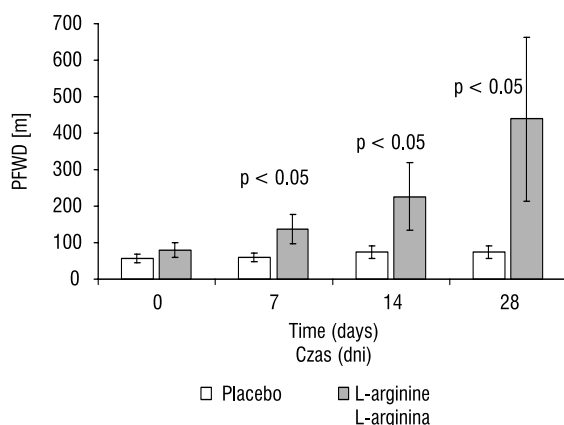
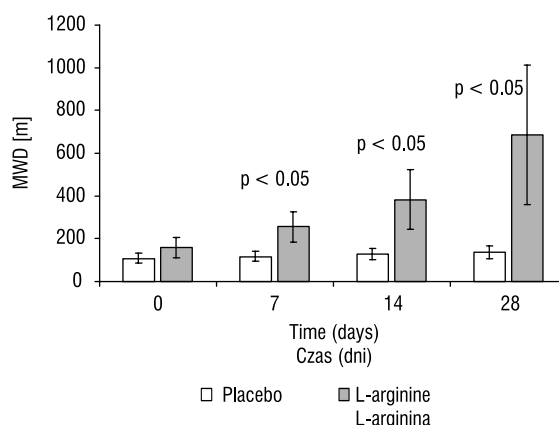
Day of the study Dzień badania	Group I (treatment) Grupa I (leczona) (n = 24)	Group II (placebo) Grupa II (placebo) (n = 24)	p
0	80.41 ± 44.18	57.08 ± 27.30	NS
7	137.08 ± 93.50	60.62 ± 27.59	< 0.05
14	226.66 ± 220.54	73.12 ± 40.31	< 0.05
28	438.75 ± 532.57	74.16 ± 42.31	< 0.05

NS — non significant (nieznamienne statystycznie)

Table IV. Maximum walking distance (MWD) w metrach**Tabela IV.** Dystans przejścia maksymalnego (MWD) in meters

Day of the study Dzień badania	Group I (treatment) Grupa I (leczona) (n = 24)	Group II (placebo) Grupa II (placebo) (n = 24)	p
0	158.95 ± 87.25	108.95 ± 50.90	NS
7	256.25 ± 168.67	117.29 ± 54.27	< 0.05
14	382.50 ± 331.65	128.95 ± 64.94	< 0.05
28	687.08 ± 769.66	137.70 ± 68.49	< 0.05

NS — non significant (nieznamienne statystycznie)

**Figure 2.** Changes in pain-free walking distance (PFWD) during a 28-day study period**Rycina 2.** Porównanie zmian dystansu przejścia do pierwszego bólu (PFWD) w 28-dniowej obserwacji**Figure 3.** Changes in the maximum walking distance (MWD) during a 28-day study period**Rycina 2.** Porównanie zmian dystansu przejścia maksymalnego (MWD) w 28-dniowej obserwacji

placebo. Similar results were obtained for the maximum walking distance (Figures 2, 3).

Group I reached significant improvements in the values of both parameters starting on day 7 of the study ($p = 0.05$). During that period PFWD grew from 80.41 ± 44.18 m to 137.08 ± 93.50 m, and MWD from 158.95 ± 87.25 m to 256.25 ± 168.62 m. Day 14 of the study

$24,88 \pm 2,30$ w grupie I i $26,12 \pm 2,27$ w grupie II. Wymienione wskaźniki nie różniły się w sposób istotny statystycznie.

U badanych chorych określono także stężenia sodu (Na), potasu (K), hemoglobiny (Hb), triglicerydów (TG), cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL i LDL (tab. II). Obydwe grupy różniły się istotnie statystycz-

brought about further progress in the studied parameters i.e. prolongation of the claudication distances to 226.66 ± 220.54 m (PFWD) and to 382.50 ± 331.65 m (MWD). Final measurements yielded 438.75 ± 532.57 m for PFWD and 687.08 ± 769.66 m for MWD.

Placebo patients presented with the prolongation of the claudication distance but the observed changes were not statistically significant ($p > 0.99$). Reported pain-free walking distance measurements on days 7, 14 and 28 were 60.62 ± 27.59 m, 73.12 ± 40.31 m and 74.16 ± 42.31 m respectively. Maximum walking distance in these patients was 117.29 ± 54.27 m on day 7, 128.95 ± 64.94 m on day 14 and 137.70 ± 68.49 m on day 28 of the study.

Discussion

The influence of L-arginine on intermittent claudication

There is no truly effective treatment prolonging the claudication distance in patients with chronic peripheral arterial disease of the lower extremities. This necessitates continuous efforts aimed at looking for new therapies. Results obtained with L-arginine in patients with intermittent claudication, both by other researchers and our team, give hope that such treatment will be determined.

At the beginning of the nineties it was shown that intravenous administration of L-arginine in hypercholesterolemic individuals augmented the forearm blood flow response to methacholine via endothelial NO production [12].

It was also proven that infusion of L-arginine improves endothelium-dependent vasodilator activity in patients with diffuse coronary atherosclerosis [13]. Since then many studies have reported that both single and prolonged oral administration of L-arginine improve vascular function in patients with hypercholesterolemia, chronic coronary artery disease and peripheral arterial disease of the lower extremities [14, 15]. Both oral and intravenous administration of L-arginine in peripheral arterial disease turned out to demonstrate satisfactory effectiveness.

Patients reported a complete disappearance or alleviation of symptoms in the lower extremities with the prolongation of pain-free walking distance.

Laboratory studies showed improvements in microcirculation function, blocking platelet aggregation and increased fibrinolytic activity [13].

Our study tried to determine the impact of oral L-arginine supplementation (3×4 g/day) on claudication distance in peripheral arterial disease of the lower extremities.

nie w zakresie stężenia Hb ($p < 0,05$), cholesterolu całkowitego ($p < 0,05$) i triglicerydów ($p < 0,05$).

Ocena dystansu chromania przestankowego

W badaniu dystansu przejścia bezbólowego i maksymalnego oceniano kończynę, której ból zmuszał chorego do zatrzymania się, lub tak zwaną „gorszą kończynę”, w przypadku gdy chory zgłaszał występowanie objawów chromania równocześnie w obu kończynach dolnych.

W momencie rozpoczynania badania chorzy z grupy przyjmującej L-argininę przechodzili na bieżni $80,40 \pm 44,18$ m do chwili wystąpienia bólu (PFWD) i $158,95 \pm 87,25$ m do momentu, gdy ból zmuszał ich do zatrzymania się (MWD). Z kolei w grupie otrzymującej placebo chorzy przechodzili odpowiednio $57,08 \pm 27,30$ m i $108,95 \pm 50,90$ m (tab. III i IV). Pomiędzy grupami nie zauważono istotnych statystycznie różnic.

W trakcie badania dystans marszu do chwili wywołania bólu zwiększył się znacząco w grupie chorych przyjmujących L-argininę, w przeciwieństwie do osób z grupy otrzymującej placebo. Podobne wyniki uzyskano w przypadku pomiaru dystansu marszu do momentu zatrzymania się z powodu bólu (ryc. 2 i 3).

W grupie I poprawa wartości obydwu badanych parametrów była znamienna, począwszy od 7. dnia badania ($p = 0,05$). W tym okresie nastąpiło zwiększenie PFWD z $80,41 \pm 44,18$ m do $137,08 \pm 93,50$ m, a MWD z $158,95 \pm 87,25$ m do $256,25 \pm 168,62$ m. W 14. dniu badania obserwowano dalszą poprawę badanych parametrów, czyli wydłużenie dystansu chromania do $226,66 \pm 220,54$ m (PFWD) i do $382,50 \pm 331,65$ m (MWD). W końcowym oznaczeniu pokonane przez badanych odcinki wyniosły $438,75 \pm 532,57$ m (PFWD) i $687,08 \pm 769,66$ m (MWD).

W grupie pacjentów otrzymujących placebo dystans chromania wydłużył się, ale obserwowane zmiany były statystycznie niezamienne ($p > 0,99$). Odcinek drogi, jaki pokonywali chorzy do wystąpienia bólu, wyniósł w 7. dniu $60,62 \pm 27,59$ m, w 14. dniu — $73,12 \pm 40,31$ m, a 28. dniu — $74,16 \pm 42,31$ m. Natomiast dystans marszu do momentu zatrzymania się wyniósł $117,29 \pm 54,27$ m, $128,95 \pm 64,94$ m i $137,70 \pm 68,49$ m, odpowiednio w 7., 14. i 28. dniu badania.

Omówienie wyników

Wpływ L-argininy na chromanie przestankowe

Brak skutecznego leku, który w jednoznaczny sposób wydłużyłby dystans chromania przestankowego w przewlekłym niedokrwieniu kończyn dolnych, zmusza do ciągłego poszukiwania nowych substancji leczniczych. Wyniki badań nad skutecznością podawania L-argininy w chromaniu przes-

28-day observation of patients supplemented with L-arginine confirmed a statistically significant prolongation of pain-free walking distance and maximum walking distance.

This clinical amelioration was bound to increased levels of nitric oxide in blood which was not observed in the placebo group.

Analgesic activity of L-arginine was first reported by Japanese researchers, who, at the beginning of the nineties, gave L-arginine to patients complaining of various kinds of pain [16]. Intravenous administration of 30 g of L-arginine stimulated synthesis of met-enkephalin, providing analgesic effects. Patients with chronic pain experienced pain relief and, in addition, felt hot in the chest and all extremities.

This discovery led to subsequent trials aimed at supplementing L-arginine to patients experiencing pain. Sławinski et al. [17] obtained results which encouraged further research into the effectiveness of L-arginine in intermittent claudication. They studied the influence of L-arginine, given at a dosage of 12.4 g/3 hrs IV, on intermittent claudication. 7 days of therapy lead to increased pain-free walking distance and increased calf muscle blood flow and cGMP concentration.

Initial results were confirmed by subsequent experiments described 2 years later [18]. Twenty-eight days of therapy allowed for the prolongation of claudication distance from 220 m to 418 m. We achieved much better results in our study with oral L-arginine supplementation.

L-arginine as a source of NO — potential mechanisms of action in lower extremity atherosclerosis

The mechanism of the action of L-arginine, which leads to the prolongation of maximum walking distance in patients with peripheral arterial disease of the lower extremities, is not completely understood. Moncada [10] proved that endothelium-derived relaxing factor (EDRF), described by Furchgott and Zawadzki in earlier papers, was in reality a nitric oxide molecule. This opened new therapeutic perspectives for this compound.

Nitric oxide is this important vasoregulator released by the endothelium which participates in the regulation of arterial tone and local blood flow. Nitric oxide is formed from L-arginine by isoforms of nitric oxide synthase.

The potential vasodilatory, antiplatelet and anti-proliferative properties of NO have led to the use of it, among other applications, in peripheral arterial disease. Therefore, supplementation with L-arginine could have led to certain therapeutic effects in peripheral arterial

tankowym, które można prześledzić w piśmiennictwie, jak również rezultaty powyższego opracowania, dają nadzieję na określenie takiej terapii. Należy podkreślić, że dotąd nie przeprowadzono poważnych wieloosrodkowych randomizowanych badań z zastosowaniem podwójnie ślepej próby określających skuteczność i bezpieczeństwo stosowania L-argininy u chorych z miażdżycą tętnic kończyn dolnych.

Na początku lat 90. wykazano, że podanie L-argininy osobom z hipercholesterolemią nasila reaktywne rozszerzenie naczyń przedramienia za pośrednictwem śródbłonkowego NO [12]. Udowodniono również, że dożylnie podawanie L-argininy wzmacnia rozkurczającą aktywność śródbłonka w zmienionych miażdżycowo tętnicach wieńcowych [13]. Od tego czasu w wielu badaniach potwierdzono, że zarówno jednorazowe podanie L-argininy, jak i jej długotrwałe doustne stosowanie poprawia czynność naczyń u chorych z hipercholesterolemią, ze stabilną dławicą piersiową oraz z miażdżycą tętnic kończyn dolnych [14, 15]. U osób z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych obserwowano zadowalającą skuteczność dożylnego i doustnego podawania L-argininy. Pacjenci zgłaszali ustąpienie lub złagodzenie objawów podmiotowych w niedokrwionych kończynach dolnych, z wydłużeniem dystansu przejścia bezbólowego. W badaniach laboratoryjnych stwierdzono poprawę mikrokrążenia, hamowanie agregacji płytek krwi oraz wzrost aktywności układu fibrynolitycznego [13].

W prezentowanej pracy podjęto próbę określenia wpływu doustnej suplementacji L-argininą w dawce 3 × 4 g na dystans chromania przestankowego u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych.

W 28-dniowej obserwacji stwierdzono znamienne statystycznie wydłużenie maksymalnej odległości marszu bez bólu oraz przejścia zmuszającego do zatrzymania się w grupie chorych poddanych terapii L-argininą. Chorzy z grupy II (otrzymujący placebo) nie zgłaszali wyraźnej poprawy dystansu chromania.

Jako pierwsi przeciwbólowe działanie argininy zaobserwowali badacze japońscy, którzy na początku lat 90. ubiegłego stulecia podawali L-argininę chorym skarżącym się na ból różnego pochodzenia [16]. Dożylnie wlewy L-argininy w dawce 30 g pobudzały biosyntezę met-enkefallyny mającej działanie analgetyczne. Chorzy z przewlekłym bólem, oprócz złagodzenia jego nasilenia, odczuwali także uczucie gorąca w klatce piersiowej, kończynach dolnych i górnych. Odkrycie to przyczyniło do podjęcia dalszych badań nad zastosowaniem tego aminokwasu w chorobach przebiegających z odczuwaniem bólu. Wyniki, które zachęciły później naukowców do badania skuteczności L-argininy w chromaniu przestankowym, uzyskali Sławinski i wsp. [17]. Badali oni wpływ L-argininy, podawanej w dawce 12,4 g w 3-godzinnych

disease of the lower extremities, which was indirectly proven in the studies led by Sławinski [17].

Beneficial effects of L-arginine use were observed in clinical studies involving large doses of this amino acid. Available literature mentions only a few cases of adverse effects reported during L-arginine treatment. The maximal safe dosage of the drug is 30 g of L-arginine per day administered IV [19, 20].

It seems that oral administration of L-arginine, 7 g tid is the most effective and safe protocol. The only adverse effects reported in medical literature were connected with dyspeptic symptoms [21, 22].

A similar outcome was achieved in the presented study, where only one patient reported nausea, which receded after H₂-blocker administration. Lack of serious adverse effects does not mean that there are no drawbacks to L-arginine use. Swallowing large amounts of pills can be met with resistance from patients and easily lead to a lack of full patient compliance.

Maxwell, Anderson and Cook [23] presented a study supplying L-arginine in the form of 50 g nutritional bars containing 3.3 g of L-arginine. On day 14 of the trial the authors reported significant prolongation of the pain-free walking distance in 66% of the patients consuming 2 bars per day. For that reason, it seems that finding the most appropriate form of the drug will help promote wider use of L-arginine.

A very interesting aspect of research on peripheral arterial disease deals with NO-dependent stimulation of angiogenesis and collateral circulation. The latter two are crucial to the adaptation of ischemic muscle to exerted effort. It has been proven that vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factors (b-FGF or FGF-2), which are angiogenesis regulators, act via EDRF [24–26].

Lowered NO activity can be the cause of impeded angiogenesis. A possible explanation for this could include proliferative effects of NO on the endothelium [27].

It has been suggested that nitric oxide could suppress the production of angiotensin, which is an endogenous antagonist of angiogenesis [28].

Therefore, supplementing patients with L-arginine, which is a donor of NO, should stimulate angiogenesis and enhance oxygen supply to ischemic muscle.

Collateral circulation in atherosclerosis allows for the rest metabolism of chronically ischemic tissue to be maintained. The increased oxygen requirement of muscle tissue during work leads to hypoxia and metabolic disturbances within the cell. Unthank et al. [29] showed that blood flow regulation in collateral circulation depends on nitric oxide concentrations. Blocking NO syn-

wlewach dożylnych, na chromanie przestankowe. Po 7 dniach terapii badacze zauważyli wydłużenie dystansu przechodzonego bez bólu, wzrost przepływu krwi przez mięśnie łydki, a także wzrost stężenia cGMP. Wstępne wyniki potwierdzono w kolejnych eksperymentach opisanych 2 lata później [18]. Po 28-dniowej terapii badacze uzyskali wydłużenie chromania przestankowego z 220 m do 418 m. Znacznie lepsze efekty doustnej suplementacji L-argininą uzyskano w prezentowanej pracy.

L-arginina źródłem tlenu azotu — potencjalne mechanizmy działania w miażdżycowym niedokrwieniu kończyn dolnych

Mechanizm działania L-argininy, który powoduje wydłużenie maksymalnego dystansu marszu u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych, nadal budzi wiele kontrowersji. Odkrycie przez Salvatora Moncade [10] w drugiej połowie lat 80., że wcześniej opisywany przez Furchgotta i Zawadzkiego śródbłonkowy czynnik rozkurczający naczynia (EDRF) jest chemicznym odpowiednikiem tlenu azotu, przyniosło nowe terapeutyczne możliwości tej cząsteczki. To właśnie NO jest tym ważnym wazoregulatorem uwalnianym przez śródbłonek, który bierze udział w regulacji napięcia tonicznego tętnicy i determinuje lokalny przepływ krwi. Tlenek azotu, jak wspomniano we wstępie, powstaje z L-argininy przy udziale enzymu — syntazy tlenu azotu. Potencjalne właściwości wazodylatacyjne, antyagregacyjne i antyproliferacyjne NO umożliwiły zastosowanie go między innymi w leczeniu niedokrwienia kończyn dolnych. Dlatego też suplementacja L-argininą mogła przynieść określone efekty terapeutyczne w miażdżycy tętnic kończyn dolnych.

Korzystne działanie L-argininy obserwowano w badaniach klinicznych podczas stosowania dużych dawek tego aminokwasu. W dostępnym piśmiennictwie odnotowano tylko kilka przypadków wystąpienia działań niepożądanych związanych ze stosowaniem argininy. Maksymalnie bezpieczna dawka leku pozbawiona objawów ubocznych to 30 g/dobę we wlewach dożylnych [19, 20]. Wydaje się jednak, że podawanie doustnie 7 g 3 razy na dobę jest najbardziej skuteczne, a jednocześnie pozbawione działań niepożądanych. Jedyne opisywane działania niepożądane w trakcie stosowania argininy wiązały się z objawami dyspeptycznymi (zgaga [21], nudności [22]) Podobne wyniki uzyskano w prezentowanym badaniu, w którym odnotowano tylko jeden przypadek chorego w grupie I, zgłaszającego nudności, ustępujące jednak po podaniu leków blokujących receptory H₂. Mimo że w żadnym z opisanych badań nie donoszono o występowaniu istotnych objawów ubocznych związanych z przyjmowaniem L-argininy, to jednak stosowanie dużej liczby tabletek może wiązać się z dezaprobatą ze strony samych chorych. W badaniu Maxwella, Andersona i Cooka

thesis by L-NAME (NOS substrate analog) impairs blood flow in that circulation.

An important component of intermittent claudication therapy is an exercise rehabilitation program improving exercise time until claudication. The efficacy of such exercise programs, usually consisting of a regular 1-hour walking treadmill session repeated 3 times a week, can be limited due to insufficient motivation of the patients [30].

Recent meta analysis [31] has shown that regular, controlled physical activity helps increase pain-free walking distance by 139 m and maximal walking distance by 179 m. Patients receiving placebo in this study did not present with prolonged pain-free walking distance, even though they were notified about the benefits associated with the exercise program. This could be the result of the short study duration (28 days). On the other hand, it seems that only awareness of the necessity of regular physical activity combined with strong patient motivation and close supervision of the exercise program can lead to the desired results.

More and more data suggest that NO is the pivotal element behind this therapy.

Laughlin et al. [32] presented a detailed account of the role of NO and exercise programs in the alleviation of claudication symptoms. They proved that physical activity stimulates expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in the arteries of skeletal muscles. Restoring physiological activity of endothelial nitric oxide synthase by providing its substrate, L-arginine, can bring about palpable benefits in the form of diminished ischemic symptoms.

Another potential beneficial mechanism connected with L-arginine supplementation in atherosclerosis is mitigating the influence of endogenous antagonists of endothelial nitric oxide synthase (e.g. ADMA). On the other hand, supplementation with L-arginine, a genuine eNOS substrate in the formation of NO, can restore normal function of the endothelium [33].

To sum up, nitric oxide synthesis dysfunction can lead to atherosclerotic changes.

Elucidation of mechanisms leading to endothelial dysfunction and diminished NO release permit the use of L-arginine in conditions associated with depletion or lack of activity of this particle.

Conclusions

Oral supplementation with L-arginine (4 g tid), unlike the placebo, leads to a substantial increase in pain-free walking distance and maximum walking distance in patients with peripheral arterial disease at Fontaine's stage II.

[23] ukazano próbę podawania L-argininy pod postacią 50-gramowych batonów odżywczych, zawierających między innymi 3,3 g argininy. W tym badaniu po 14 dniach obserwacji uzyskano istotnie statystycznie wydłużenie dystansu przejścia bezbólowego o 66% w grupie chorych spożywających 2 batony dziennie. Dlatego wydaje się, że znalezienie najbardziej odpowiedniej dla chorego postaci leku pozwoli na powszechniejsze stosowanie L-argininy.

Bardzo interesującym kierunkiem badań nad łagodzeniem objawów miażdżycowego niedokrwienia kończyn dolnych jest NO-zależna stymulacja angiogenezy i rozwoju krążenia obocznego. Odgrywają one kluczową rolę w adaptacji niedokrwionego mięśnia do wykonywanej pracy. Wykazano bowiem, że śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) i czynniki wzrostowe fibroblastów (b-FGF lub FGF-2), będące regulatorami angiogenezy, działają za pośrednictwem EDRF [24–26]. Obniżenie bioaktywności NO, chemicznego odpowiednika śródbłonkowego czynnika rozszerzającego naczynia, może być powodem osłabienia angiogenezy. Poszukując wytłumaczenia dla tych zjawisk, podkreśla się między innymi proproliferacyjne działanie NO na śródbłonek [27]. Sugeruje się również, że NO może hamować produkcję angiostatyny, endogennego antagonisty angiogenezy [28]. Zgodnie z tą koncepcją podanie L-argininy, będącej donorem NO, powinno pobudzać angiogenezę, co dalej zwiększy zaopatrzenie niedokrwionych mięśni w tlen.

Istnienie i rozwój krążenia obocznego w miażdżycy umożliwia utrzymanie spoczynkowej przemiany materii przewlekle niedokrwionych tkanek. Dopiero zwiększone zapotrzebowanie na tlen podczas pracy mięśniowej powoduje niedotlenienie i zaburza tlenowe przemiany energetyczne w komórce. Unthank i wsp. [29] wykazali, że regulacja przepływu krwi przez krążenie oboczne zależy od stężenia tlenu azotu. Zablockowanie syntezy NO poprzez działanie L-NAME (nieswoistego blokera syntaz NO) powoduje zmniejszenie przepływu krwi przez naczynia oboczne.

Ważnym elementem w leczeniu chromania przestankowego jest również tak zwany „trening marszowy”. Wydłuża on dystans przejścia bezbólowego i zmniejsza natężenie bólu mięśni podczas chodzenia. Jednakże efektywność rehabilitacji ruchowej, polegającej głównie na regularnym 1-godzinnym treningu marszowym na ruchomej bieżni zazwyczaj 3 razy w tygodniu, może być ograniczona przede wszystkim przez małą motywację samych ćwiczących [30]. Ostatnio przeprowadzona metaanaliza [31] ukazała, że dzięki regularnemu i kontrolowanemu wysiłkowi fizycznemu dystans pokonywany do chwili pojawienia się bólu wzrósł o 139 m, a dystans do momentu, gdy chory musiał się z powodu bólu zatrzymać, o 179 m. W prezentowanym badaniu w grupie osób

The influence of oral supplementation of L-arginine on intermittent claudication and oxidative stress in patients with peripheral arterial disease of the lower extremities.

References

- Ouriel K (2001) Peripheral arterial disease. *Lancet*, 348: 1257–1264.
- Cronenwett JL, Warner KG, Zelenock GB et al (1984) Intermittent claudication. Current results of nonoperative management. *Arch Surg*, 119: 430–436.
- Dormandy JA, Murray GD (1991) The fate of the claudicant — a prospective study of 1969 claudicants. *Eur J Vasc Surg*, 5: 131–133.
- Ross MR, Gordon IK, Romrell JL (1995) *Histology: A Text and Atlas*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Steinberg D i wsp. (1989) Beyond cholesterol modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*, 320: 915.
- Förstermann U, Mügge A, Alheid U, Haverich A, Frölich JC (1988) Selective attenuation of endothelium-mediated vasodilation in atherosclerotic human coronary arteries. *Circ Res*, 62: 185–190.
- Furchgott RF, Zawadzki JV (1980) The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288: 373–376.
- Furchgott RF (1983) Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res*, 53: 557–573.
- Rapoport LJ, Murad F (1983) Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in the rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ Res*, 52: 352–357.
- Palmer RMJ, Ashtin DS, Moncada S (1988) Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 333: 644–646.
- Appleton J (2002) Arginine: Clinical potentiation of a semi-essential amino acid. *Alt Med Rev*, 7: 512–522.
- Creager MA, Gallagher SM, Girerd XJ, Dzau VJ, Cooke JP (1992) L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*, 90: 1248–1253.
- Dubois-Randé JL, Zelinsky R, Roudot F, Chabrier PE, Castaigne A, Geschwind H, Adnot S (1992) Effects of infusion of L-arginine into the left anterior descending coronary artery on acetylcholine-induced vasoconstriction of human atherosclerotic coronary arteries. *Am J Cardiol*, 70: 1269–1275.
- Ceremużyński L, Chamiec T, Herbaczynska-Cedro K (1997) Effect of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. *Am J Cardiol*, 80: 331–333.
- Grodzińska L, Kostka-Trąbka E, Sławiński M et al (1993) Próba zastosowania L-argininy u pacjentów z miażdżycą tętnic kończyn dolnych. *Probl Terapii Monit*, 4: 201–202.
- Harima A, Shimizu H, Takagi H (1991) Analgesic effect of L-arginine in patients with persistent pain. *Eur Neuropsychopharmacol*, 1: 529–533.
- Sławiński M, Grodzińska L, Kostka-Trąbka E (1996) L-arginine substrate for NO-synthesis — its beneficial effects in therapy of patients with peripheral arterial disease: comparison with placebo — preliminary results. *Acta Physiol Hung*, 84: 457–458.
- otrzymujących placebo nie obserwowano wydłużenia dystansu marszu bez bólu, mimo że chorych poinformowano o korzyściach związanych z realizacją treningu ruchowego. Z jednej strony może to wynikać ze zbyt krótkiego okresu badania (28 dni), z drugiej wydaje się, że tylko świadomość konieczności regularnego wykonywania ćwiczeń fizycznych, związana z nią odpowiednia motywacja chorych, a także ścisły nadzór nad wykonywanymi ćwiczeniami mogą przynieść pożądane rezultaty.
- Coraz więcej danych sugeruje NO-zależny mechanizm działania tego rodzaju terapii. Próbę wytłumaczenia roli NO i treningu marszowego w łagodzeniu chromania można prześledzić w pracy Laughlina i wsp. [32], w której wykazano, że wysiłek fizyczny zwiększa ekspresję śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS) w tętnicach zaopatrujących mięśnie szkieletowe. Tak więc przywrócenie fizjologicznej aktywności śródbłonkowej syntazy tlenu azotu poprzez dostarczenie substratu w postaci L-argininy może przynieść określone korzyści w łagodzeniu objawów niedokrwienia.
- Kolejnym potencjalnym mechanizmem korzystnego efektu podawania L-argininy w miażdżycy jest fakt, że może ona osłabiać działanie endogennych antagonistów śródbłonkowej syntazy tlenu azotu. Jednocześnie podanie L-argininy, prawdziwego substratu dla eNOS do wytwarzania tlenu azotu, może przywrócić prawidłową funkcję śródbłonka naczyniowego [33].
- Podsumowując, dysfunkcja syntezy tlenu azotu może prowadzić do rozwoju zmian miażdżycowych. Osłabienie powstawania NO lub utrata jego aktywności przyczynia się zatem do zapoczątkowania, a następnie postępu miażdżycy. Poznanie mechanizmów, które prowadzą do osłabienia prawidłowej funkcji śródbłonka w zakresie uwalniania NO, umożliwiło zastosowanie L-argininy w leczeniu chorób przebiegających z niedoborem lub obniżoną aktywnością tej aktywnej cząsteczki.

Wnioski

Doustna suplementacja L-argininą w dawce 3 × 4 g na dobę, w przeciwieństwie do substancji obojętnej, istotnie zwiększa zarówno dystans marszu do wywołania bólu, jak i długość przejścia maksymalnego u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a.

- Sławiński M, Grodzińska L, Kostka-Trąbka E et al (1998) Placebo-controlled trial of L-arginine in the treatment of peripheral arterial obstructive disease patients. *Med Sci Monit*, 4: 640–645.
- Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W (1998) Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with

- peripheral arterial occlusive disease. *J Am Coll Cardiol*, 32: 1336–1344.
20. Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP et al (1999) Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation*, 99: 1141–1146.
 21. Wu G, Meininger CJ (2000) Arginine nutrition and cardiovascular function. *J Nutr*, 130: 2626–2629.
 22. Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D et al (2001) Oral L-arginine administration attenuates postprandial endothelial dysfunction in young healthy males. *J Clin Pharm Ther*, 26: 343–349.
 23. Maxwell AJ, Anderson BE, Cooke JP (2000) Nutritional therapy for peripheral arterial disease: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial of HeartBar. *Vasc Med*, 5: 11–19.
 24. Hood JD, Meininger CJ, Ziche M et al (1998) VEGF up-regulates cNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. *Am J Physiol*, 274: 1054–1058.
 25. Wu HM, Yuan Y, McCarthy M et al (1996) Acidic and basic FGFs dilate arterioles of skeletal muscle through a NO-dependent mechanism. *Am J Physiol*, 271: 1087–1093.
 26. Papapetropoulos A, Desai KM, Rudic RD et al (1997) Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *J Clin Invest*, 100: 3131–3139.
 27. Dulak J, Jozkowicz A, Dembińska-Kiec A et al (2000) Nitric oxide induces the synthesis of vascular endothelial growth factor by rat vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 659–666.
 28. Matsunaga T, Weihrauch DW, Moniz MC et al (2002) Angiostatin inhibits coronary angiogenesis during impaired production of nitric oxide. *Circulation*, 105: 2185–2191.
 29. Unthank JL, Nixon JC, Dalsing MC (1996) Nitric oxide maintains dilatation of immature and mature collaterals in rat hindlimb. *J Vasc Res*, 33: 471–479.
 30. Hiatt WR (2001) Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N Engl J Med*, 344: 1608–1621.
 31. Girolarni B, Bernardi E, Prins MH, Ten Cate JW, Hettiarachchi R, Prandoni P et al (1999) Treatment of intermittent claudication with physical training, smoking cessation, pentoxifylline, or nafronyl: a meta-analysis. *Arch Intern Med*, 159: 337–345.
 32. Laughlin MH, Pollock JS, Amann JF, Hollis ML, Woodman CR, Price EM (2001) Training induces nonuniform increase in eNOS content along in the coronary arterial tree. *J Appl Physiol*, 90: 501–510.
 33. Cooke JP (2000) Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20: 2032–2037.