

# Znaczenie argininy w patologii przewlekłych powikłań cukrzycy

## The role of arginine in the pathomechanism of late diabetic complications



### Dorota Zozulińska

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



### Anna Majchrzak

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

## Abstract

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

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

**key words:** diabetes mellitus, endothelium, arginine

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



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

## Wstęp

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

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

## Śródbłonek naczyniowy

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

Jednym z najistotniejszych zadań śródbłonna jest utrzymywanie prawidłowego napięcia ściany naczyniowej. Odbywa się to poprzez syntezę i uwalnianie zarówno czynników naczyniorozkurczowych, jak i naczynioskurczowych [3]. Zasadniczym bodźcem powodującym uwalnianie czynników rozkurczających naczynia, takich jak NO, prostacyklina ( $\text{PGI}_2$ ) oraz śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący (EDHF, *endothelium-derived hyperpolarizing factor*), jest tarcie przepływającej krwi (*shear stress*) o powierzchnię śródbłonna [4].

Tlenek azotu powstaje w komórkach śródbłonna na drodze przemiany L-argininy w L-cytrulinę. Reakcja katalizowana jest przez konstytutywną postać syntazy tlenu azotu (eNOS-3). Kofaktorami tej reakcji są tetrahydrobiopteryna ( $\text{BH}_4$ ) oraz fosforan dwunukleotydu nikotyn-amido-adeninowego (NADPH) [5, 6]. Oprócz działania naczyniorozkurczowego NO hamuje adhezję i agregację zarówno leukocytów, jak i płytek krwi [7]. Zmniejszając napięcie ściany naczyniowej, NO ogranicza jej przepuszczalność dla składników pokarmowych, hormonów i innych molekuł, a także dla monocytów i granulocytów. Tlenek azotu posiada również własności antyproliferacyjne oraz zapobiega utlenianiu cząsteczek cholesterolu frakcji LDL (*low density lipoprotein*) [8].

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

Wśród śródbłonkowych substancji naczyniokurczących najlepiej poznaną jest endotelina-1 (ET-1). Peptyd ten jest uwalniany z komórek śródbłonna pod wpływem trombiny, angiotensyny II, katecholamin, wazopresyny i interleukiny-1. Zwiększoną produkcję ET-1 notuje się w warunkach hipoksji tkankowej [10]. Własności obkurczania ściany naczyniowej wykazują również produkty metabolizmu kwasu arachidonowego powstające pod wpływem działania cyklooksygenazy — prostaglandyna  $\text{PGF}_{2\alpha}$  oraz troboksan  $\text{A}_2$  ( $\text{TXA}_2$ ). Podobne własności mają także aniony ponadtlenkowe ( $\text{O}_2^-$ ) [11].

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

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

## Dysfunkcja śródbłonna u chorych z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej

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

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

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

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

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

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

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

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

## Arginina w leczeniu przewlekłych powikłań cukrzycy

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

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

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

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

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

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

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

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

## Streszczenie

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

**słowa kluczowe:** cukrzyca, śródbłonek, arginina

## Piśmiennictwo

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

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