

# Теоретические и практические аспекты применения L-аргинина с целью профилактики цереброваскулярной патологии

М.А. Трещинская

Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) — доминирующая хроническая патология в большинстве стран мира, являющаяся основной причиной смерти и инвалидности населения (World Health Organization, 2002). Целостность и физиологическая функция эндотелия сосудов являются основой здоровья сердечно-сосудистой системы. Именно эндотелиальная функция находится под влиянием сосудистых факторов риска. Дисфункция эндотелия (ДЭ) сосудов является ранним патофизиологическим признаком и независимым предиктором неблагоприятного прогноза при большинстве форм ССЗ (Perez-Vizcaino F. et al., 2006).

У большинства лиц в возрасте 65 лет и старше отмечают ССЗ (Lin K.Y. et al., 2002; Loscalzo J., Morris S.M., 2004). Даже при отсутствии других факторов риска возраст выступает в виде независимого патогенетического стимула, повышающего заболеваемость и смертность от инфаркта миокарда (ИМ) и церебрального инсульта (рисунк) (Csiszar A. et al., 2008).

Известно, что с возрастом снижается активность фермента, который обеспечивает синтез оксида азота (NO) — основного медиатора функции эндотелия. У лиц в возрасте старше 75 лет уровень NO в крови в 3–4 раза ниже, чем у лиц 25–30 летнего

возраста. Предполагается, что снижение активности синтеза NO является одним из физиологических механизмов старения организма (Степанов Ю.М. и соавт., 2004).

ДЭ является предстадией морфологических изменений при АС (Deanfield J.E. et al., 2007). Она отмечается у пациентов с традиционными факторами риска АС, включающими гиперхолестеринемию, курение, сахарный диабет (СД) и артериальную гипертензию (АГ) до того, как они клинически проявятся (Creager M.A. et al., 1990; Williams S.B. et al., 1996). ДЭ очевидна не только при АС, но и при других ССЗ (застойная сердечная недостаточность, легочная гипертензия), а также при септическом шоке, преэклампсии (Widlansky M.E. et al., 2003).

Эндотелий артериальных сосудов представляет собой слой клеток на базальной мембране, обладающих аутокринной, паракринной и эндокринной функцией, способствующих поддержанию delicateго баланса контррегулирующих путей, которые участвуют в вазомоторных реакциях, пролиферации клеток, тромбообразовании, воспалении и оксидативном стрессе (Vasquez-Vivar J. et al., 1998; Perez-Vizcaino F. et al., 2006). Клетки эндотелия также вовлечены в процесс модулирования активности лейкоцитов и тромбоцитов, ингиби-

руют адгезию лейкоцитов и диапедез, поддерживают непроницаемость барьера для клеток крови и плазменных белков (Anderson T.J., 1999; Cooke J.P., 2000).

NO, ранее известный как эндотелиальный фактор релаксации — вероятно, наиболее важная субстанция, продуцируемая сосудистым эндотелием (Ignarro L.J. et al., 1987; Palmer R.M. et al., 1987). NO образуется в эндотелии путем преобразования аминокислоты (АК) L-аргинина в L-цитруллин при участии фермента эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). eNOS локализуется конститутивно в эндотелиальных клетках: первично — в комплексе Гольджи, а затем — в кавеолах. Этот фермент отвечает за синтез базального уровня NO и быстрые изменения уровня NO в ответ на физические стимулы и молекулы-агонисты (Lin K.Y. et al., 2002).

Как L-, так и D-изомер аргинина присутствуют в системной циркуляции у человека. Но только L-аргинин является единственным субстратом eNOS для синтеза NO.

L-аргинин (2-амино-5-гуанидиновалериановая кислота) является заменимой АК у здоровых, взрослых индивидуумов и превращается в частично незаменимую АК в молодом, растущем организме или после оперативного вмешательства или травмы (Di Pasquale M.G., 1997; Tousoulis D. et al., 2007). Напряжение сдвига через вязкостные свойства крови раздражает сосудистую стенку и активирует eNOS (фермент активируется также под влиянием брадикинина и ацетилхолина, а угнетается — с возрастом, при воспалении и под влиянием свободнорадикального окисления) путем фосфорилирования (Palmer R.M. et al., 1988). L-аргинин гидроксигуанилируется в N-гидрокси-L-аргинин с последующим окислением до NO и L-цитруллина. NO диффундирует в гладкомышечные клетки сосудов, активирует гуанилатциклазу и индуцирует циклический гуанозин-3',5'-монофосфат (цГМФ)-связанное расслабление гладкомышечных клеток путем активации цГМФ-зависимой протеинкиназы G с последующим фосфорилированием белков калиевых каналов, снижением уровня ионов кальция в цитозоле клеток и деполаризацией легких цепей миозина (Tang K.M. et al., 2003). Этот процесс, именуемый

Рисунок



Схематическое представление о кардиоваскулярном континууме\*

ЛЖ — левый желудочек; АС — атеросклероз; ТИА — транзиторная ишемическая атака. \*Кардиоваскулярный континуум — от физиологического состояния (слева) до наличия факторов кардиоваскулярного риска, субклинического поражения органов-мишеней и развития коронарогенных, цереброваскулярных и ренальных событий (справа). Наиболее ранним проявлением патологии является ДЭ, которая способствует повреждению органов-мишеней и является установленным кардиоваскулярным фактором риска (Hamilton C.A. et al., 2001).

эндотелийзависимой вазодилатацией, лежит в основе регуляции региональной кровотока и также называется феноменом потокозависимой вазодилатации (ПВ). Нитроглицерин и нитропруссид натрия являются потенциальными вазодилататорами, поскольку их эффект реализуется по аналогичному пути в гладкомышечных клетках сосудов. Способность воспринимать экзогенный NO получила название эндотелийнезависимой вазодилатации (Deanfield J.E. et al., 2007).

Для синтеза NO необходимо определенное соотношение субстрата (L-аргинина) и кофакторов (кислород, никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADPH), тетрагидробиоптерин ( $BH_4$ ), гем и флавін).  $BH_4$  связывается с гемовой группой N-терминальной оксидазы домена NOS и стабилизирует молекулу димера. Эта связь переводит NOS в состояние сильного вращения, повышает активность фермента и увеличивает аффинитет NOS к L-аргинину (Heffernan K.S. et al., 2008).  $BH_4$  принимает электрон от флавіна в C-конец редуктазы домена NOS в процессе синтеза NO и L-цитруллина и действует как важный агент окисления-восстановления (Delp M.D. et al., 2008). Дисфункция любого из этих шагов с возрастом может лежать в основе неправильной реакции, снижать биоэквивалентность NO, что ослабляет вазодилатацию и нарушает региональную циркуляцию и тканевую перфузию (Heffernan K.S. et al., 2008).

Гомеостаз плазменной концентрации L-аргинина зависит от потребления аргинина с пищей, кругооборота белков, синтеза L-аргинина и уровня метаболизма в организме. Основным органом, в котором происходит синтез L-аргинина, являются почки, где L-аргинин формируется из L-цитруллина, образуящегося преимущественно в тонком кишечнике (Dhanakoti S.N. et al., 1990). В печени синтезируется достаточное количество L-аргинина, который используется в цикле мочево́й кислоты, и таким образом, практически не влияет на концентрацию АК в системной циркуляции (Watford M., 1991). Условное разделение между печеночной и системной циркуляцией L-аргинина частично ассоциируется с тем фактом, что система активного захвата L-аргинина имеет очень низкую активность в гепатоцитах (White M.F., 1985). Типы клеток, содержащие NOS, обладают способностью реутилизировать L-цитруллин, продукт синтеза NO, в L-аргинин в так называемом цикле аргинин-цитруллин (Hecker M. et al., 1990). Этот путь катализируется ферментами, также вовлеченными в цикл мочево́й кислоты, а тот факт, что L-цитруллин накапливается внутри NO-продуцирующих клеток, указывает на то, что аргинин-цитруллиновый цикл менее продуктивен, чем цикл мочево́й кислоты (Wu G., Morris S.M. Jr., 1998). В макрофагах и других типах клеток активация индуцибельной NOS (iNOS) сопровождается индуцированием аргининсукцинатсинтазы, уровеньзависимого фермента, обеспечивающего биосинтез L-аргинина (Nagasaki A. et al., 1996). Пред-

полагается, что доступность субстрата для NOS регулируется и может ограничивать синтез NO в зависимости от его концентрации в определенных условиях.

Типичная диета дает человеку 3–6 г L-аргинина в сутки. Основными источниками L-аргинина являются семена различных растений, пшеничные зародыши, овес, бобовые (соя, горох, фасоль), мясо (утки, гуся, барана), орехи (грецкие, кокосовые, фундук, фисташки, арахис), рыба, желатин, молочные и морепродукты с биодоступностью приблизительно 60% (Wu G., Meininger C.J., 2000). Так, каждый грамм белка в рационе содержит около 54 мг L-аргинина. Согласно данным M. Walser (1983), взрослый человек массой тела 70 кг, употребляет 50 г белка в сутки, расходует 0,2 ммоль (34,8 мг) L-аргинина на 1 кг массы тела, или всего 2,4 г L-аргинина в сутки. Расхождения между данными исследований возникли в результате различий в суточном потреблении белка в западной диете. Обычное потребление L-аргинина составляет 4–5 г/сут.

Схематически метаболизм L-аргинина можно представить следующим образом (Heffernan K.S. et al., 2010). Прежде всего, L-аргинин дезинтегрирует на L-орнитин и мочеви́ну при помощи аргиназы, что обеспечивает элиминирование заменимых нитросодержащих веществ из организма. L-аргинин является незаменимым компонентом замкнутого метаболического процесса — цикла мочево́й кислоты. У млекопитающих этот путь позволяет удалить постоянно образующийся токсичный аммиак ( $NH_3$ ) из организма. Более того, побочный продукт этой реакции, L-орнитин, является предшественником для синтеза полиаминов — молекул, незаменимых для пролиферации и дифференцировки клеток (Pegg A.E., 1986). L-аргинин необходим для синтеза креатина, который в фосфорилированной форме (креатинфосфат) является незаменимым источником энергии для сокращения мышц. Продукт его деградации, креатинин, выводится клубочками почек и используется как суррогатный маркер фильтрационной способности клубочков почки.

J. Brosnan и M. Brosnan на конференции «Symposium on Arginine» (2004) предложили гипотезу о двойном цикле, состоящую в том, что L-аргинин, образующийся в ходе цикла мочево́й кислоты в печени, может служить как источником мочеви́ны (посредством аргиназы), так и орнитина и гуанидин ацетата (при помощи аргинин/глицин аминотрансферазы); эта реакция является первым шагом в биосинтезе креатина. В обоих случаях гуанидиновая группа L-аргинина обеспечивает эффективное размещение «лишних» нитроатомов, источником которых является катаболизм АК, что приводит к образованию орнитина, который рециркулирует в цикле мочево́й кислоты (Loscalzo J., Morris S.M., 2004).

Лишь в 80-х годы XX в. выявлено, что L-аргинин является предшественником NO (Palmer R.M. et al., 1988; Schmidt H.N. et al., 1988). Биосинтез NO из L-аргинина катализируется цитохром P450-подобным гемопропротеином NOS, три изоформы которой

были первично изолированы из макрофагов (iNOS, II тип) (Bredt D.S. et al., 1991), эндотелиальных клеток (eNOS, III тип) и нейронов (nNOS, I тип) (Mayer B. et al., 1991). По характеру индукции и действию они подразделяются на  $Ca^{2+}$ -независимую (iNOS) и менее мощные конститутивные  $Ca^{2+}$ -зависимые и кальмодулинзависимые NOS (eNOS, nNOS). Молекулы синтаз содержат домены с оксигеназной и редуктазной активностью. Побочным продуктом этой реакции является L-цитруллин. Аргининдеаминаза также способствует синтезу L-цитруллина из L-аргинина, в ходе чего образуется  $NH_3$ .

В 90-х годах XX в. у млекопитающих был выделен фермент аргининдекарбоксилаза, который обеспечивает конвертирование L-аргинина в агматин и  $CO_2$ . Агматин связывается с  $\alpha_2$ -адрено- и имидазолowymi рецепторами, обеспечивая клонидиноподобное влияние на артериальное давление (АД) (Li G. et al., 1994). Агматин является слабым ингибитором NOS и может выступать в роли модулятора продукции NO в достаточной высокой концентрации (Galea E. et al., 1996).

Метилирование L-аргинина с помощью аргинин-N-метилтрансферазы приводит к образованию NG,NG-диметиларгинина, который затем метаболизируется в L-цитруллин с помощью диметиларгинин диметиламиногидролазы (dimethylarginine dimethylaminohydrolase — DDAH). L-цитруллин, образующийся из L-аргинина в ходе цикла мочево́й кислоты и при метаболизме диметиларгинина, является источником для ресинтеза L-аргинина с образованием из аспартата фумарата. У млекопитающих L-аргинин также синтезируется из глутамина с помощью пирролин-5-карбоксилатсинтазы и пролиноксидазы в многоэтапном метаболическом каскаде (Wu G. et al., 1997).

Таким образом, существует несколько путей катаболизма L-аргинина и только один путь его синтеза — через цитруллин. Значительная часть L-аргинина синтезируется в гепатоцитах в цикле мочево́й кислоты, а затем немедленно гидролизуется до орнитина и мочеви́ны и, таким образом, практически не влияет на концентрацию L-аргинина в системной циркуляции (Morris S.I., 2005).

У взрослого человека глутамат является первичным источником карбоновой основы для синтеза цитруллина в эпителиальных клетках тонкого кишечника, а пролин является основным источником карбонового скелета в передних буграх четверохолмия (Wu G., Morris S.M. Jr., 1998; 2004). Тонкий кишечник — основной источник цитруллина для системной циркуляции. Он образуется при участии NOS и DDAH. Цитруллин выделяется в циркулирующую кровь из кишечника и захватывается почками для превращения в L-аргинин (Dhanakoti S.N. et al., 1990). Проксимальные каналы почек являются основным местом продукции L-аргинина из цитруллина у взрослых; многие виды клеток обладают такой способностью, хотя и в различной степени и в значительно меньшем

количестве. Незначительное количество цитруллина, продуцируемого из L-аргинина при помощи NOS, может обратно превращаться в L-аргинин при помощи аминосукцинатсинтазы и аргининсукцинатлазы в так называемом цитруллин-NO цикле (Wu G., Morris S.M. Jr., 1998; 2004). В исследовании с использованием культуры клеток показано, что способность к восстановлению до L-аргинина ограничена продукцией NO в результате активации iNOS в гладкомышечных клетках сосудов, что актуально при инфекции или воспалении, но не в физиологических условиях (Xie L., Gross S.S., 1997).

Метаболическое взаимодействие между кишечником и почками составляет интестипочечную ось аргининового синтеза (Wu G., Morris S.M. Jr., 1998; 2004). Наличие эндогенного синтеза L-аргинина свидетельствует о том, что АК является частично незаменимой у взрослых индивидумов. У детей, а также при восстановлении после травмы или инфекционного заболевания эндогенный синтез L-аргинина не обеспечивает физиологические потребности, поэтому L-аргинин является ситуационно (относительно) незаменимой АК (Morris C.R. et al., 2005).

Поскольку значительная часть эндогенного L-аргинина образуется в почках, почечная недостаточность может обуславливать снижение концентрации АК в плазме крови у пациентов при гемолитических состояниях. У больных с нарушенной функцией кишечника может образовываться меньше цитрулина, что также приводит к снижению концентрации АК в плазме крови (Pita A.M. et al., 2003). Таким образом, L-аргинин является незаменимой АК у пациентов с нарушенной функцией почек или тонкого кишечника.

L-аргинин образуется в цикле мочевого кислоты путем деградации пищевых или эндогенных белков или в ходе преобразования цитрулина в цитруллин-аргининовом цикле. В норме концентрация L-аргинина стабильна и практически не изменяется при патологических состояниях, ассоциирующихся с ДЭ. L-аргинин обычно транспортируется в эндотелиальные и другие клетки с помощью специфических транспортных систем. Внутриклеточная концентрация L-аргинина колеблется в пределах 0,1–1,0 ммоль/л (Böger R.H. et al., 1998).

Выявлено несоответствие между половинной концентрацией насыщения L-аргинина для изолированной, очищенной эндотелиальной eNOS (2,9 мкмоль) и плазменной концентрацией L-аргинина (60–100 мкмоль) (Pollock J.S. et al., 1991). С точки зрения ферментативной биохимии это указывает на то, что дополнительное введение L-аргинина не должно оказывать эффекта на активность NOS, поскольку этот фермент должен быть насыщен субстратом на физиологическом уровне и не зависеть от внеклеточного поступления субстрата. Тем не менее, L-аргинин оказывает благоприятный эффект на эндотелийзависимую дилатацию *in vivo*. Этот феномен называется «L-аргининовый парадокс». Потенциальным механизмом

этого феномена является изменение афинитета eNOS к ее субстрату L-аргинину (Böger R.H. et al., 1998). Еще несколько объяснений существуют для данного феномена. Во-первых, L-аргинин может делиться в цитоплазме, и локальная концентрация вблизи eNOS может быть ниже, чем ожидается во всей клетке. Существуют доказательства, что eNOS локализуется в везикулах сформированных из цитоплазматической мембраны с транспортером  $u^+$  (McDonald K.K. et al., 1997). Внеклеточный L-аргинин может предпочтительнее утилизироваться NOS в границах этого микроокружения. Это может объяснить быструю конверсию внеклеточного L-(гуанидино- $^{15}N_2$ )-аргинина в  $^{15}N$ -нитрат на культуре клеток (Schmidt H.H. et al., 1988).

Еще одно объяснение L-аргининового парадокса может быть связано с наличием при ряде заболеваний эндогенного ингибитора NOS. Асимметричный диметиларгинин (ADMA) — эндогенная молекула, которая блокирует активность NOS (Vane J. et al., 1990). Ингибирующее влияние аналогов L-аргинина на NOS может быть преодолено избытком субстрата, что может объяснить, почему L-аргинин улучшает эндотелиальную функцию у пациентов с сосудистыми заболеваниями. Тем не менее, эта теория не раскрывает причины эффекта L-аргинина у здоровых людей с низким уровнем ADMA.

L-аргинин практически в 10 раз больше метаболизируется в креатин, чем используется NOS. Синтез креатина требует метилирования гуанидин ацетата с помощью S-аденозил-L-метионина в печени с образованием S-аденозил-L-гомоцистеина. Затем в процессе гидролиза с помощью S-аденозил-L-гомоцистеингидролазы образуется аденозин и L-гомоцистеин. L-гомоцистеин может быть метаболизирован в процессе метилирования или в процессе транссульфирования в цистеин (Loscalzo J., 2004).

Данный метаболический путь требует адекватной поддержки метилирования, что может быть ограничено расходом более чем 70% лабильных метильных групп в процессе синтеза креатина (основного источника метильных групп). Сосудистые клетки могут только реметилировать L-гомоцистеин, но не способны транссульфировать до цистеина, вероятно, поэтому локальная концентрация этой атерогенной АК может повышаться в сосудистой системе. Более того, L-гомоцистеин может повышать концентрацию в плазме АДМА путем ингибирования DDAH — фермента, который метаболизирует ингибитор NOS в L-цитруллин. Важно отметить, что до сих пор не было публикаций, объясняющих этот механизм (Loscalzo J., 2004).

Среди известных путей катаболизма L-аргинина наиболее важными являются два альтернативных пути — окисный (при участии NOS) — с образованием L-цитрулина и NO и неокисный (опосредованный аргиназой) — с образованием L-орнитина и мочевины (Степанов Ю.М. и соавт., 2004).

Аргиназный путь метаболизма L-аргинина обеспечивает биосинтез мочевины

и L-орнитина. Этот путь также индуцируется воспалительными молекулами — цитокинами, бактериальными эндотоксинами в макрофагах и гладкомышечных клетках (Bachetti T. et al., 2004).

В организме млекопитающих аргиназа присутствует в виде двух изоформ: цитозольной (тип I), широко представленной в печени как компонент цикла мочевого кислоты, и митохондриальной (тип II), распространенной в почках и предстательной железе. Эти изоформы являются продуктами генов, которые у человека локализованы на хромосомах 6q23 (аргиназа I) и 14q24 (аргиназа II) (Mori M., Gotoh T., 2000).

Умеренный уровень аргиназной активности конститутивно представлен в эндотелиальных клетках. Активность повышается при воздействии липополисахаридов и фактора некроза опухоли- $\alpha$  или по мере старения (Berkowitz D.E. et al., 1982; Buga G.M. et al., 1996; Bachetti T. et al., 2004). Катаболизм L-аргинина с помощью аргиназы превосходит катаболизм посредством NOS приблизительно в 200 раз в нестимулированных эндотелиальных клетках коронарных сосудов крыс (Wu G., Meininger C.J., 1995). Аргиназа II, чья экспрессия существенно не представлена в нестимулированных эндотелиальных клетках человека, индуцируется под влиянием липополисахаридов и представляет собой минимальную фракцию общего количества аргиназной активности в стимулированных эндотелиальных клетках (Berkowitz D.E. et al., 1982; Bachetti T. et al., 2004; Xu W. et al., 2004).

Аргиназа I экспрессируется в гладкомышечных клетках сосудов и индуцируется интерлейкинами-4 и -13, трансформируется тканевым фактором роста (ТФР)- $\beta$  и лизофосфатидилхолином (Durante W. et al., 1997; 2001). Индукция аргиназы типа I ТФР- $\beta$  приводит к повышению конвертирования аргинина в пролин и коррелирует с повышением продукции коллагена-1 (Durante W. et al., 2001). Повышение экспрессии аргиназы I в гладкомышечных клетках аорты в результате стабильной трансформации (трансформации) с аргиназой I, экспрессирования плазмиды или влияния ТФР- $\beta$ , лизофосфатидилхолином приводит к увеличению продукции полиаминов и, что более важно — к повышению степени пролиферации (Wei L.H. et al., 2001). Ингибирование аргиназы приводит к уменьшению количества полиаминов (Durante W. et al., 1997). В ходе исследования с использованием культуры эндотелиальных клеток с повышенной представленностью аргиназы I и II выявлено, что аргиназа помогает регулировать синтез полиаминов и пролиферацию эндотелиальных клеток (Li H. et al., 2002). Более того, во второй половине процесса генерации орнитина в эндотелиальных клетках аргиназа обеспечивает образование пролина, а степень превращения L-аргинина в пролин повышается по мере повышения активности эндотелиальных клеток (Li H. et al., 2001). Аргиназа является важным фактором в регуляции синтеза коллагена, богатого пролином протеина,

в эндотелиальных и прилегающих клетках сосуда. Немного L-аргинин-опосредованного орнитина превращается в глутамат, эта трансформация увеличивается в клетках с повышенной активностью аргиназы, но степень этого превращения, несомненно, недооценивается, поскольку в эндотелиальных клетках происходит активное перераспределение углеродного скелета к другим метаболитам с помощью трансминаз (Li H. et al., 2001). Эти данные демонстрируют, что активность аргиназы может ограничивать пролиферацию гладкомышечных клеток и рассматривается как фактор регулирования гиперплазии интимы.

Исследования показали, что ингибирование активности аргиназы приводит к повышению продукции NO эндотелием, а наличие аргиназы в эндотелиальных клетках служит в качестве ограничителя доступности субстрата для NO в условиях АГ и ишемически-реперфузионного повреждения. В сосудах старых животных активность эндотелиальной аргиназы повышается и, соответственно, может обусловить ДЭ в виде снижения способности к синтезу NO (Berkowitz D.E. et al., 1982; Zhang C. et al., 2001; 2004). Активность как NOS, так и аргиназы значительно снижена в эндотелиальных клетках у крыс с СД по сравнению с животными контрольной группы без СД (Wu G., Meininger C.J., 1995).

Аргиназа I экспрессируется в эритроцитах человека и обеспечивает активный процесс гемолизации. Повышение в плазме крови концентрации свободной аргиназы выявлено при хронических гемолитических состояниях (например серповидно-клеточной анемии) (Kim P.S. et al., 2002; Morris C.R. et al., 2003; 2004; 2005). Повышение уровня аргиназы может привести к снижению концентрации L-аргинина в циркулирующей крови, что может привести к снижению продукции NO и сосудистой дисфункции, например при легочной гипертензии (Morris C.R. et al., 2003; 2004; 2005).

Экспрессия аргиназы может быть важным элементом выживания нейронов в процессе повреждения или метаболических нарушений, поскольку изменяет активность iNOS (Loscalzo J., Morris S.M., 2004).

Окисленные липопротеины низкой плотности (ЛПНП) повышают активность аргиназы, соответственно, снижается продукция NO в эндотелиальных клетках аорты человека (Bode-Vöger S.M. et al., 1999). Продемонстрировано, что у мышей при питании с высоким содержанием холестерина (ХС) и животных, содержащих атерогенный аполипопротеин Е, активность аргиназы в сосудистом эндотелии повышена. Выборочное ингибирование аргиназы II или гена аргиназы II предотвращает уменьшение синтеза NO сосудистым эндотелием, связанное с повышением содержания в плазме крови диетозависимого ХС, снижает окисление ЛПНП, уменьшает сосудистую жесткость. Кроме того, ингибирование аргиназы статистически значимо уменьшает тяжесть АС-процесса. Эти данные свидетельствуют, что аргиназа II играет критическую роль в патофизиоло-

гии холестеринобусловленной ДЭ и представляет новую мишень для терапии АС (Vanhoutte P.M., 2008).

Таким образом, аргиназа может влиять на сосудистую физиологию посредством как NO-зависимого, так и NO-независимого механизмов. Аргиназа не только может ограничивать синтез NO, но повышает синтез полиаминов и пролиферацию клеток, стимулирует образование пролина и, вероятно, коллагена (Morris S.I., 2005).

Снижение синтеза NO приводит к вазоконстрикции (повышается риск развития АГ), свободнорадикальному повреждению мембран клеток (что способствует развитию АС), тромбофилии, снижению противоопухолевой и противoinфекционной активности иммунной системы, угнетению сексуальной функции. Другими словами, по мере развития ДЭ происходят изменения, характеризующиеся повышением сосудистого тонуса, протромботическим состоянием, воспалительной активацией лейкоцитов, а затем проникновением их в сосудистую стенку; гладкомышечные клетки мигрируют и пролиферируют, увеличивается сосудистая проницаемость (Loscalzo J., 2004). Все эти процессы возможны в условиях уменьшения протекторных свойств NO.

Дефицит NO может возникнуть в результате снижения его синтеза или повышения окислительной инактивации в нитрит, нитрат и пероксинитрат. К свободным радикалам относятся супероксид-анион, гидроксен пероксид и дериват гидроксилрадикала. В нормальном состоянии антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза) и молекулы низкой массы ( $\alpha$ -токоферол и аскорбиновая кислота) метаболизируют эти высокорезактивные свободные радикалы. Факторы риска АС приводят к повышению уровня свободных радикалов в сосудистой системе. Источником свободных радикалов является митохондриальный метаболизм, NADPH оксидаза, ксантины/ксантиноксидаза, глюкоза/глюкозооксидаза и нитроксидаза. Нитроксидаза обеспечивают продукцию супероксиданиона путем снижения концентрации кислорода в условиях ограниченной доступности кофактора  $BH_4$  или L-аргинина (Loscalzo J., Morris S.M., 2004).

NOS ингибируется аналогами L-аргинина, в которых замещен атом азота, такими как  $N^6$ -мометил-L-аргинин или NG-нитро-L-аргинин (Rees D.D. et al., 1990). Ингибирующее влияние этих молекул может быть преодолено излишком L-аргинина, что указывает на наличие конкуренции за фермент между L-аргинином и его аналогами. Снижение активности eNOS доказано при повышении концентрации в плазме крови ЛПНП, что можно предотвратить путем дополнительного введения L-аргинина (Pritchard K.A. et al., 1995). Эти данные указывают на то, что в определенных условиях L-аргинин участвует в регуляции активности NOS в эндотелиальных клетках.

Уменьшение количества NO обуславливает увеличение жесткости сосудистой стенки, что свидетельствует об активации защитных механизмов организма. Повы-

шается экспрессия сосудистых хемокинов, цитокинов и молекул адгезии, что приводит к увеличению численности лейкоцитов, агрегации тромбоцитов и инициации АС (Deanfield J.E. et al., 2007).

Возраст ассоциируется с ухудшением функционирования ряда органов и систем вследствие потери массы ткани (саркопения). Более того, возраст и ССЗ в последнее время стали синонимами воспаления. Обычно воспаление приводит к восстановлению утраченной целостности ткани, но если процесс заживления не соответствует системным требованиям, воспаление может привести к персистирующему повреждению ткани (Marchesi S. et al., 2008). Как воспаление, так и окислительный стресс были идентифицированы как ключевые факторы в патогенезе сосудистого повреждения с возрастом, даже при отсутствии факторов риска или клинически манифестировавших заболеваний (Csizsar A. et al., 2008). Таким образом, возрастные изменения можно рассматривать как катаболическое/воспалительное состояние, сопровождающееся повышенным потреблением АК, в том числе L-аргинина.

Как уже отмечалось, доступные данные свидетельствуют, что ДЭ широко распространена и развивается по мере старения даже при отсутствии сосудистых заболеваний (Heffernan K.S. et al., 2008; Yavuz B.B. et al., 2008). ДЭ может рассматриваться как первичное фенотипическое проявление старения у здоровых людей. Полагают, что такая первичная сосудистая чувствительность является «виновницей» повышения риска ССЗ по мере старения (Kuvyn J.T., Karas R.H., 2003). С ДЭ связывают возрастассоциированное снижение когнитивных функций (потеря памяти), физической активности (снижение активности в течение дня) (Kearney-Schwartz A. et al., 2009). ДЭ участвует в патогенезе многих заболеваний, таких как АГ, инсульт, зрительная дисфункция и почечная недостаточность (Brunner H. et al., 2005).

Нарушение функции эндотелия является прогностическим фактором ССЗ, а фармакологическая коррекция персистирующей ДЭ может снизить риск АС (Brunner H. et al., 2005). Вмешательства, благоприятно влияющие на эндотелиальную функцию, улучшают клинические исходы (Suessenbacher A. et al., 2006). Данные оценки эндотелиальной функции артерий предплечья являются маркером долгосрочного прогноза ССЗ у пациентов с АГ (Perticone F. et al., 2001). Пациенты с нарушенной эндотелиальной функцией, по данным ряда исследований, имеют высокий риск развития ССЗ, в связи с чем можно предположить, что ДЭ является предиктором необходимости более агрессивной или комбинированной медикаментозной терапии для снижения риска развития ССЗ (Heitzer T. et al., 2001; Perticone F. et al., 2001). Наблюдение за эндотелиальной функцией в динамике в ответ на различные формы лечения может помочь титровать препараты и принимать решение о необходимости дополнительной терапии (Kuvyn J.T., Karas R.H., 2003).

Путь L-аргинин-NO играет критическую роль в поддержании нормальной эндотелиальной функции, а именно — в поддержании нормального АД (Umans J.G., Levi R., 1995), функции миокарда (Morikawa E. et al., 1994), воспалительного ответа (Lyons C.R., 1995), апоптоза (Brune V. et al., 1995) и защите от оксидативного повреждения (Wink D.A. et al., 1995). Таким образом, коррекция ДЭ, которая заключается, прежде всего, в нарушении метаболизма NO, является перспективным направлением профилактики ССЗ. Экспериментальные и клинические исследования показали, что введение субстрата для синтеза NO, L-аргинина может уменьшить проявления ДЭ.

Перорально введенный L-аргинин легко всасывается (Castillo L. et al., 1995). L-аргинин является субстратом для синтеза NO, белков, мочевины, креатина, вазопрессина и агматина (Wu G., Morris S.M. Jr., 1998). L-аргинин, не метаболизирующийся с помощью аргиназы до орнитина, используется одним из 4 ферментов: NOS (до образования NO), аргинил-тРНК-синтетазой (до образования аргинил-тРНК, предшественника в синтезе белков), аргининдекарбоксилазой (до агматина), аргининглицинамидинотрансферазой (до креатина). Таким образом, введение L-аргинина может потенцировать синтез не только NO и уменьшать проявления ДЭ, но и других метаболитов АК. Кроме того, L-аргинин повышает биоактивность NO посредством прямой антиоксидантной активности, стимулирует выделение гистамина из основных клеток, что дополняет вазодилаторный эффект, снижает активность норадреналина, что способствует действию эндогенных вазодилаторов, таких как NO, а также повышает секрецию инсулина, что способствует вазодилатации (Böger R.H. et al., 1995; Chin-Dusting J.P. et al., 1996). *In vivo* применение L-аргинина снижает уровень NOS-опосредованного супероксида, повышает накопление NO при ишемическом реперфузионном повреждении скелетных мышц (Huk I. et al., 1997; Vasquez-Vivar J. et al., 1997; 1998). L-аргинин, поступающий в виде соли гидрохлорной кислоты, может влиять на внутриклеточный pH, что улучшает транспорт кальция и активацию eNOS, способствует неферментному превращению нитрита в NO (Zweiger J.L. et al., 1999).

Улучшению эндотелиальной функции на фоне введения L-аргинина может способствовать ряд особенностей препарата (Loscalzo J., 2004). L-аргинин препятствует окислению  $\text{BH}_4$  — основного кофактора NOS. Также L-аргинин тормозит окисление ЛПНП, которые, в свою очередь, понижают уровень NO, разрывает потенцированный окисленными ЛПНП комплекс eNOS с кавелином, подавляющий активность фермента; восстанавливает нарушенные ЛПНП функции биомембран, в том числе мембраносвязанных рецепторов, опосредующих стимулирующее действие eNOS влияние ряда биологически активных соединений, зависимых от NO-вазодилаторов. Препарат препятствует вызываемому супероксид-анионом и ЛПНП разобщению eNOS,

в результате чего она начинает поставлять электроны молекулярному кислороду и увеличивать количество супероксид-аниона, способствуя нарушению равновесия  $\text{NO}/\text{O}_2^-$  в сторону последнего. L-аргинин преодолевает торможение экспрессии eNOS и снижение уровня NO, вызываемые эндогенными ингибиторами eNOS (ADMA и L-NMMA), а также повышенную активность аргиназы при AC (Surdacki A. et al., 1999). Также L-аргинин восполняет увеличенный расход АК, обусловленный повышенной экспрессией iNOS в клетках иммунной системы и сосудов при AC. Препарат снижает степень активации лимфоцитов, уровень антител к окисленному ЛПНП (Greager M.A., 1997).

Плейотропные функции L-аргинина можно условно разделить на иммунологические и гормональные. В первом случае эффект L-аргинина заключается в повышении активности T-клеток, N-киллеров и снижении активности NADPH-оксидазы, уменьшении количества ADMA, миелопероксидазы, гомоцистеина и эндотелина-1. Гормональная активность препарата обусловлена увеличением выделения инсулина, в результате чего повышается активность PI- и Akt-киназ и eNOS; гормона роста, который также повышает активность eNOS и PI и Akt-киназ через IRS-1 и способствует уменьшению количества свободных радикалов наряду с повышением активности антиоксидантной системы, стимулирует образование пролактина, глюкагона, адреналина и норадреналина (Isidori A. et al., 1981; Besset A. et al., 1982; Daly J.M. et al., 1990).

Дозозависимая клиническая эффективность L-аргинина, по данным исследований на людях, заключается в том, что в невысоких концентрациях в плазме крови (80–800 мкмоль/л) L-аргинин обладает селективным влиянием на эндотелиальную функцию у пациентов с повышенным содержанием ADMA. В более высокой концентрации в плазме крови (800–8000 мкмоль/л) препарат оказывает прямое вазодилатирующее действие (вероятно, благодаря плейотропному эндокринному влиянию на синтез инсулина и гормона роста). В высоких концентрациях (>8000 мкмоль/л) как L-аргинин, так и D-аргинин оказывают неспецифическое вазодилатирующее действие за счет осмотического эффекта, ацидоза и влияния на эндокринную систему (Wu G. et al., 2004).

В вазодилаторный эффект L-аргинина может быть вовлечен еще один метаболит — агматин — лиганд центральных  $\alpha_2$ - и имидазольных рецепторов, которые индуцируют клонидиноподобный эффект путем уменьшения периферического симпатического тонуса и снижения АД, вызывая вазодилатацию (Isidori A. et al., 1981; Li G. et al., 1994).

Таким образом, применение L-аргинина при ДЭ является перспективным направлением, а поскольку основным критерием нарушенной функции эндотелия является снижение способности артерий к ПВ, то и маркером эффективности препарата в большинстве исследований был принят этот показатель.

Большинство современных исследований, показавших преимущества применения L-аргинина, проведены на животных моделях или людях с факторами риска AC, но без установленного сосудистого заболевания (Loscalzo J., 2004). Исследования показали, что при применении L-аргинина у мышей повышается eNOS-опосредованная продукция NO и уменьшается выраженность AC-процесса (Chen J. et al., 2003; Loscalzo J., 2004). Ряд исследований показал, что введение L-аргинина здоровым пациентам пожилого возраста не оказывало влияния на ПВ (Adams M.R. et al., 1995; Chin-Dusting J.P. et al., 1996; Gates P.E. et al., 2007). Результаты мета-анализа свидетельствуют, что эффект L-аргинина зависит от начального состояния эндотелия (Bai Y. et al., 2009). Применение L-аргинина не способно увеличить эндотелийзависимую вазодилатацию у здоровых индивидуумов с нормальной функцией эндотелия, в то время как при нарушении функции эндотелия препарат может быть эффективным.

В крупном метаанализе выявили, что в сравнении с плацебо краткосрочное применение L-аргинина ассоциируется с достоверным увеличением ПВ плечевой артерии, которое указывает на улучшение эндотелиальной функции (Böger R.H. et al., 1998). Результаты исследований были во многом гетерогенными; вероятно, подбор пациентов и дизайн исследований могли повлиять на результаты работ. Мета-регрессивный анализ этих результатов показал, что гетерогенность определялась базисными показателями ПВ. Статистическая обработка результатов выявила обратную зависимость между ПВ и степенью эффективности применения L-аргинина (Böger R.H. et al., 1998).

Анализ по подгруппам выявил, что эффект от приема L-аргинина был положительным, когда ПВ была ниже, и отрицательным, когда ПВ была выше базисной линии. Эти данные показывают, что вышеуказанное вмешательство способно восстановить эндотелиальную функцию, но не может ее увеличить. Таким образом, эффективность L-аргинина значительно зависит от начальной ПВ, что может отразиться на целесообразности назначения препарата определенному контингенту пациентов, наиболее чувствительному к терапии, с различной степенью нарушения эндотелиальной функции (Böger R.H. et al., 1998).

В ходе метаанализа ряда исследований выявлено, что пациенты подгруппы с низкой и высокой базисной ПВ достоверно отличались по возрасту и дозе применяемого L-аргинина (табл. 1). Потенциальное влияние этих факторов изучено в ходе чувствительного мета-регрессионного анализа, который показал, что доза L-аргинина (3–24 г/сут) и возраст пациентов не оказывали влияния на эффективность. Тот факт, что низкие дозы L-аргинина были также эффективны, как и более высокие, можно расценивать как вероятность поддерживающей терапии с помощью специальной диеты, обогащенной продуктами с высоким содержанием аргинина

**Таблиця 1** Характеристика підгруп пацієнтів в залежності від показателя ПВ (Bai Y. et al., 2009)

Показатель	Низкая ПВ (<7%) <sup>1</sup>	Высокая ПВ (≥7%) <sup>2</sup>
Количество исследований, n	10	3
Количество участников, n	365	128
Возраст, лет	43,7±6,1 <sup>3</sup>	62,5±4,0 <sup>4</sup>
Начальная ПВ, %	4,3±0,6	9,8±1,2 <sup>4</sup>
Доза L-аргинина, г/сут	12,0±2,4	6,0±1,7 <sup>4</sup>
Длительность исследования, дней	17,0±3,5	21,7±4,6

<sup>1</sup>Первая, вторая и третья квартили для всех исследований; <sup>2</sup>четвертая квартиль для всех исследований; <sup>3</sup>среднее значение ± стандартное отклонение; <sup>4</sup>достоверное отличие группы с низким ПВ (p<0,05).

(орехи, зерновые и т.д.). С другой стороны, существует вероятность, что выборка была недостаточно велика для того, чтобы оценить эффективность различных доз L-аргинина (Bai Y. et al., 2009).

Для достоверности из метаанализа были исключены исследования, в которых эффективность L-аргинина оценивалась независимо от базисного показателя ПВ (Creager M.A. et al., 1992; Drexler H. et al., 1994; Bai Y. et al., 2009). Выявлено, что вызванное ацетилхолином увеличение скорости кровотока обусловлено применением L-аргинина у пациентов с нарушенной ПВ. В другом исследовании установлено, что дополнительное применение L-аргинина улучшает ацетилхолин-обусловленную реакцию сосудов у пациентов с нарушенной ПВ и не влияет на нее у здоровых лиц (Creager M.A. et al., 1992), что еще раз подтверждает гипотезу о зависимости эффекта L-аргинина от начального показателя ПВ и, соответственно, состояния эндотелия (Drexler H. et al., 1994).

Эндотелийзависимая вазодилатация с возрастом угасает (Celermajer D.S. et al., 1994). L-аргинин при пероральном применении улучшает ПВ плечевой артерии в исследовании с участием здоровых пациентов пожилого возраста, у которых эндотелийзависимая вазодилатация изначально была нарушена (Vode-Böger S.M. et al., 2003). В ряде исследований установлено, что как внутривенное, так и пероральное применение L-аргинина у здоровых пациентов не оказывало влияния на эндотелиальную функцию в дозах, эффективных при патологических состояниях (Adams M.R. et al., 1995; Vode-Böger S.M. et al., 1998). Очень высокие дозы L-аргинина, вводимые внутриаартериально или внутривенно, вызывают вазодилатацию у здоровых субъектов молодого возраста (Imaizumi T. et al., 1992).

L-аргинин может быть недостаточно эффективным при установленном АС. Дело в том, что при АС повышена экспрессия iNOS, которая является более активным ферментом, по сравнению с eNOS. Значительное повышение продукции NO, опосредованное действием iNOS, по сравнению с таковым под влиянием eNOS, приводит к повышению продукции супероксид-аниона, а перекисно-окисленные липиды инактивируют NO, что потенцирует свободнорадикальное окисление. Оксидативномодифицированные белки в сосудистой стенке и оксидация BH<sub>2</sub> нарушают функцию eNOS, что приводит к снижению продукции NO (Loscalzo J., 2004; Donato A. et al., 2009).

L-аргинин показал многообещающие результаты как средство профилактики ДЭ при остром стрессе. К примеру, курение и употребление жирной пищи являются достоверными причинами ухудшения эндотелиальной функции. Пероральное применение L-аргинина перед курением или употреблением жирной пищи предупреждает вредное воздействие этих факторов на эндотелиальную функцию (Marchesi S. et al., 2001; Lin C.C. et al., 2008; Siasos G. et al., 2008; 2009).

Итак, выявлено, что кратковременное применение L-аргинина улучшает эндотелиальную функцию (Böger R.H. et al., 1998). A.M. Wilson и соавторы (2007) показали, что длительное применение L-аргинина может оказывать неблагоприятное влияние — курс в дозе 3 г/сут в течение 6 мес уменьшал доступность NO (оценивалось по величине ПВ, концентрации NO в плазме крови и моче и концентрации цитруллина в плазме крови). Выявлено, что длительное применение L-аргинина уменьшает чувствительность гладкомышечных клеток к NO в ответ на напряжение сдвига (толерантность к аргинину) (Wilson A.M. et al., 2007; Heffernan K.S. et al., 2009). При длительном применении L-аргинина вероятно появление толерантности к нитратам, что можно также наблюдать при длительном применении экзогенного донатора NO — нитроглицерина. A.M. Wilson и соавторы (2007) полагают, что вызванное аргинином транзитное повышение уровня NO может ингибировать активность NOS через нитрозилирование фермента или транспортера L-аргинина.

Следует отметить, что существует незначительная вероятность истощения запасов L-аргинина в эндотелиальных клетках из-за высокой его концентрации внутри эндотелиоцитов и возможности его синтеза из L-цитруллина (Hecker M. et al., 1990). Механизм, посредством которого L-аргинин улучшает эндотелиальную функцию, остается не до конца изученным. Низкая ПВ может быть результатом снижения выработки NO. В этом случае эффективность L-аргинина связана с восстановлением концентрации NO. В то же время у лиц с высокой ПВ отмечается достаточная активность NO, что объясняет незначительную эффективность L-аргинина (Adams M.R. et al., 1995). Более того, L-аргинин может обладать дополнительным благоприятным влиянием на эндотелиальную функцию, которое не обусловлено повышением концентрации субстрата для синтеза NO. Исследования показали, что пероральное применение L-аргинина может повышать секрецию

инсулина и пролактина, влиять на иммунную систему и ингибировать перекисное окисление ЛПНП (Isidori A., 1981; Besset A. et al., 1982; Hayde M. et al., 1994).

L-аргинин является потенциальным иммуномодулятором. Применение препарата оказывает регулирующее влияние на иммунные факторы и уменьшает число послеоперационных осложнений. При повышении плазменной концентрации L-аргинина повышается активность лимфоцитов — нормальных и лимфокинактированных киллеров, усиливается продукция интерлейкина-2 (Park K.G. et al., 1991). L-аргинин повышает активность Т-клеток и имеет иммуностабилзирующий эффект при недостаточном поступлении белка (Daly J.M. et al., 1990). У пациентов с хронической патологией почек и ССЗ L-аргинин вызывал снижение концентрации таких маркеров воспаления и свободнорадикального окисления, как АДМА (эндогенный ингибитор NO), миелопероксидазы (фермент гемма, присутствующий в воспалительных клетках и катализирующий инактивацию NO), гомоцистеина (стимулятор свободнорадикального окисления, который вызывает повреждение сосудов и АС) (West S.G. et al., 2005). Применение аргинина в дозе 30 г/сут вызывало достоверное повышение активности естественных киллеров, активированных лимфокинами киллеров цитотоксичности и лимфоцитов митогенной реактивности (Brittenden J. et al., 1994).

Полярность боковой цепи аргинина — +20,0. Этим объясняются противомикробные свойства АК. Известно, что внешние стенки бактерий заряжены отрицательно, мембраны теплокровных — практически нейтральны. Поэтому аргинин, взаимодействуя с мембранами бактерий, является нетоксичным для эукариот. Антимикробные пептиды, содержащие аргинин, взаимодействуя с мембраной бактерий изменяют ее структуру и проницаемость. Поскольку механизм действия универсален, пептиды, содержащие аргинин, губительны даже для тех микроорганизмов, которые выработали устойчивость к антибиотикам в процессе эволюции (Степанов Ю.М. и соавт., 2004).

Как уже упоминалось, L-аргинин может стимулировать синтез ряда гормонов: инсулина, глюкагона (Gerich J.E. et al., 1974), пролактина (MacAllister R.J. et al., 1995), гормона роста, адреналина, норадреналина и пролактина (McConell G.K. et al., 2007). Много АК стимулируют синтез инсулина, но только L-аргинин является наиболее сильным из них (McConell G.K. et al., 2007). Поскольку инсулинорезистентность ассоциируется с ДЭ, инсулин может потенциально улучшать ПВ в ответ на глюкозу посредством высвобождения NO, как результат активации фосфатидилинозитол-3-киназы и Akt-киназы (Kuboki K. et al., 2000). L-аргинин стимулирует выделение гормона роста (соматотропного гормона) и тем самым улучшает эндотелиальную функцию посредством ряда механизмов: прямого активирования eNOS; повышения экспрессии eNOS; сохранения

биодоступности NO в результате антиоксидантного действия. Стимуляция выделения гормона роста до верхнего уровня вызывает позитивный психотропный эффект, улучшая настроение, повышая бодрость, уменьшая симптомы депрессии, улучшает активность, внимание и память (Brown-Borg H.M. et al., 2003).

Быстрое введение L-аргинина (3 г в 10 мл NaCl), как пациентам с СД 2-го типа, так и здоровым добровольцам, достоверно приводит к снижению уровня гомоцистеина, противодействует оксидативному стрессу и повышает уровень NO (Faldetta C. et al., 2002).

В какой-то степени вазодилатирующее действие L-аргинина можно объяснить его влиянием на эндокринную систему. Внутривенное введение аргинина в высоких дозах (30 г) применяли с 1960-х годов для стимуляции секреции гормона роста. Показано, что внутривенное введение 30 г L-аргинина вызывает вазодилатацию и повышение секреции инсулина у здоровых субъектов (Giugliano D. et al., 1997). Механизм действия гормона роста и инсулина, посредством которого они могут индуцировать вазодилатацию, не до конца изучен. Когда секреция инсулина была заблокирована октреотидом, вазодилатация не возникла и восстанавливалась при введении инсулина. К сожалению, исследователи не отслеживали концентрацию гормона роста, который также блокируется октреотидом. В другом исследовании показано, что L-аргинин (30 г внутривенно) вызывает быстрое повышение концентрации инсулина и отсроченное повышение уровня гормона роста (Bode-Böger S.M. et al., 1999). При дополнительной инфузии соматостатина выделение обоих гормонов блокировалось; соматостатин блокировал только отдаленную, но не раннюю секрецию NO. В результате исследования было выдвинуто предположение, что гормон роста обеспечивает длительную NO-зависимую вазодилатацию на фоне высоких доз L-аргинина (Bode-Böger S.M. et al., 1999).

Современные исследования предложили альтернативную гипотезу механизма влияния L-аргинина на эндотелиальную функцию. N<sup>G</sup>-мометил-L-аргинин и АДМА схожи по структуре с L-аргинином и являются конкурентными антагонистами eNOS (Cooke J.P., 2000; Vallance P. et al., 1992). Экспериментально доказано, что активность фермента диметиламиногидролазы очень важна для регуляции количества АДМА и продукции NO (Achan V. et al., 2003; Dayoub H. et al., 2003). N<sup>G</sup>-мометил-L-аргинин вызывает ДЭ как у животных, так и у людей (Mopcada S., Higgs A., 1993). Концентрация в плазме крови АДМА у людей в 10 раз выше, чем N<sup>G</sup>-мометил-L-аргинина (Cooke J.P., 2000). АДМА в конце концов деградирует до цитруллина с помощью фермента диметиламиногидролазы. Эндогенный ингибитор NOS, N-мометил-L-аргинин и АДМА можно выявить в плазме крови и моче (Vallance P. et al., 1992).

АДМА — производное аргинина — фактор риска атеротромбоза и смерти у паци-

ентов, требующих интенсивной терапии. Повышенная концентрация АДМА зарегистрирована у пациентов с периферическими артериальными окклюзионными заболеваниями, хронической сердечной недостаточностью гипергомоцистеинемией и АГ (Hornig B. et al., 1998; Sydow K. et al., 1999). Повышенный уровень АДМА в патологической степени (3–15 мкмоль/л) значительно ингибирует выделение NO в сосудах (Böger R.H. et al., 2000). Данные проспективных клинических исследований показали, что АДМА является прогностическим маркером ССЗ и всех причин смертности у пациентов с конечной стадией заболеваний почек. Как конкурентный ингибитор NOS, АДМА оказывает неблагоприятный эффект за счет блокирующего влияния на продукцию эндогенного NO. Именно влияя на блокаду фермента, вводимый извне L-аргинин улучшает эндотелиальную функцию у индивидов с атеротромботическими заболеваниями и АГ. Ферменты, участвующие в синтезе и транспорте АДМА, рассматриваются как потенциальные терапевтические мишени при ССЗ (Loscalzo J. et al., 2004).

Уровень АДМА в плазме крови повышен у пациентов с гиперхолестеринемией, триглицеридемией, гипергомоцистеинемией, инсулиновой резистентностью, почечной недостаточностью, СД 2-го типа и коронарным синдромом X (Stuhlinger M.C. et al., 2001; 2003). Повышенный уровень АДМА, как и соотношения L-аргинин/АДМА, ассоциируются с нарушением ПВ плечевой артерии у пациентов с гиперхолестеринемией, гипертриглицеридемией и гипергомоцистеинемией (Böger R.H. et al., 1998). Тем не менее, в исследовании Н.А. Walker и соавторов (2001) у мужчин со стабильной стенокардией отношение L-аргинин/АДМА не коррелировало с ДЭ, определяемой по ПВ на ацетилхолин. Показано, что у пациентов с повышенным уровнем ХС в плазме крови уровень АДМА был достоверно выше, чем у лиц с нормальным уровнем ХС. В то же время концентрация L-аргинина у пациентов обеих групп не отличалась. Уровень АДМА обратно коррелировал с ДЭ, определенной по показателю ПВ плечевой артерии. Внутривенная инфузия высоких доз L-аргинина (14 г в течение 20 мин) улучшала эндотелиальную функцию у пациентов с гиперхолестеринемией, в отличие от плацебо. Это улучшение возникло без изменения уровня АДМА и на фоне отсутствия повышения отношения L-аргинин/АДМА. После инфузии L-аргинина уровень экскреции нитратов с мочой повышался (Gornik H., Creager M., 2004).

На модели кроликов с гиперхолестеринемией продемонстрировано улучшение (нормализация) ПВ как после быстрого внутривенного введения, так и после энтерального применения L-аргинина. В то же время препарат не влиял на ПВ у здоровых кроликов контрольной группы. Применение D-аргинина не оказывало влияния ни на ПВ, ни на реакцию сосудов на ацетилхолин или нитроглицерин у кроликов с гиперхолестеринемией и животных контрольной группы. В одном небольшом исследовании

кроликам давали корм с повышенным содержанием ХС. Части животных в корм добавляли L-аргинин. ПВ у кроликов, получавших L-аргинин, не отличалась от ПВ здоровых животных, однако такой протекторный эффект АК исчезал после 14 нед терапии у животных с гиперхолестеринемией, принимавших L-аргинин. На фоне лечения уменьшалась площадь АС бляшки в брюшной аорте (Cooke J.P. et al., 1992).

Повышенная концентрация ХС в сыворотке крови ассоциируется со снижением ПВ и активности эндотелиального NO еще до того, как возникнут какие-либо структурные изменения в артериальной стенке (Creager M.A. et al., 1990).

В исследовании, в котором L-аргинин применяли перорально в дозе 21 г/сут в течение 4 нед у пациентов с гиперхолестеринемией, выявлено улучшение ПВ плечевой артерии в сравнении со здоровыми пациентами, у которых не было такой динамики (Clarkson P. et al., 1996). Опубликованные исследования показали, что пероральное применение L-аргинина влияет на эндотелиальную функцию на фоне гиперхолестеринемии у больных с ССЗ, здоровых лиц и здоровых людей молодого возраста, которые курят (Blum A. et al., 2000; Marchesi S. et al., 2001; Walker H.A. et al., 2001; Bode-Böger S.M. et al., 2003; Böger G.I. et al., 2007; Wilson A.M. et al., 2007; Lin C.C. et al., 2008; Siasos G. et al., 2008). В большинстве этих исследований эндотелиальная функция определялась по показателю ПВ, которая показывает способность плечевой артерии к расширению в ответ на вызванную ишемией гиперемии и отражает локальную биодоступность NO при физиологической стимуляции (Böger G.I. et al., 2007).

Быстрое внутривенное введение L-аргинина у пациентов с гиперхолестеринемией может улучшить эндотелиальный ответ в резистивных сосудах периферической и коронарной циркуляции (Creager M.A. et al., 1992). Также показано, что добавление в рацион L-аргинина в течение 4 нед улучшает ПВ артерий у людей молодого возраста — асимптомных лиц с гиперхолестеринемией (Clarkson P. et al., 1996). При этом такое длительное применение препарата не сопровождалось нежелательными гемодинамическими и клиническими событиями, что позволяет рекомендовать этот терапевтический подход для практического применения. Данное исследование отличалось от ранее проведенных тем, что пациенты, включенные в исследование, находились на более ранней стадии развития заболевания и поэтому имели потенциал для восстановления. Ранее проведенные исследования с использованием L-аргинина проводились с участием пациентов пожилого возраста, у которых ДЭ и АС были объективизированы. Парентеральное введение L-аргинина вызывало улучшение эндотелийзависимого ответа в мелких сосудах предплечья и коронарной циркуляции у лиц с гиперхолестеринемией, в отличие от субъектов с нормальным уровнем ХС (Creager M.A. et al., 1992). Краткосрочная

терапия L-аргинином не оказывала эффекта на эндотелиальную физиологию крупных магистральных артерий в этих работах.

Экспериментальные работы по изучению свойств сосудистой стенки показали, что очень важным является баланс между продукцией NO и активацией эндотелия (Ohara Y. et al., 1993). У пациентов с гиперхолестеринемией нарушенная вазодилатация в ответ на поток крови и другие эндотелийзависимые стимулы может возникнуть в результате усиления инактивации NO свободными радикалами, генерируемыми в присутствии окисленных ЛПНП и/или липопротеина (а) в субэндотелиальном пространстве или в ряде случаев — вследствие ограничения доступности субстрата для синтеза NO (Creager M.A. et al., 1990). Продемонстрировано, что изначально *in vitro* экстрацеллюлярный уровень L-аргинина был адекватным для поддержания или повышения интрацеллюлярной продукции NO даже при гиперхолестеринемии (Hecker M. et al., 1990; Maxwell A.S. et al., 2000). В присутствии физиологической концентрации L-глутамата концентрация субстрата, при которой скорость реакции наполовину меньше максимальной NOS для L-аргинина может быть намного выше (Adams M.R. et al., 1995; Clarkson P. et al., 1996).

S.G. West и соавторы (2005) изучали механизмы и степень влияния пероральной формы L-аргинина (12 г/сут в течение 3 нед) на показатели системной гемодинамики и уровень гомоцистеина в крови у здоровых пациентов с гиперхолестеринемией. В ходе исследования выявлено достоверное снижение уровня гомоцистеина в крови на 2 ммоль/л и диастолического АД — на 2 мм рт. ст. У пациентов с более выраженным повышением содержания в крови L-аргинина наблюдалось более значительное снижение уровня гомоцистеина. По сравнению с многими другими исследованиями, в которых изучались эффекты внутривенной формы L-аргинина в высоких дозах, в данном исследовании показано менее выраженное снижение АД, механизм развития которого объясняется как снижение сердечного выброса, а не уменьшение общего периферического сосудистого сопротивления. Показано, что снижение уровня гомоцистеина в плазме крови происходит после перорального применения L-аргинина в той же степени, что и при внутривенном введении препарата в более высоких дозах. Таким образом, в исследовании показано, что L-аргинин уменьшает сердечный выброс и не влияет на общее периферическое сопротивление. Выдвинуто предположение, что влияние L-аргинина не обусловлено увеличением продукции и/или активности NO (несмотря на значительно повышенное соотношение аргинин/АДМА), поскольку концентрация АДМА у добровольцев была повышена незначительно. В поддержку этого предположения выявлено значительное повышение уровня орнитина (68%) и незначительные ( $p=0,23$ ) изменения концентрации цитрулина (6%), что свидетельствовало

о том, что вводимый L-аргинин метаболизируется с помощью аргиназы, а не NOS.

В ряде исследований оценивалось прямое влияние L-аргинина на гемодинамику. Так, выявлено, что внутривенное введение 30 г L-аргинина достоверно увеличивает кровоток в бедренной артерии у здоровых субъектов в среднем на 44%. Более низкие дозы L-аргинина (6–8 г внутривенно или перорально) не вызывали быстрого сосудорасширяющего эффекта (Schellong S.M. et al., 1997).

В то же время в другом исследовании показано, что внутривенное введение L-аргинина (30 г в течение 30 мин), по сравнению с плацебо, достоверно приводило к снижению АД и повышению частоты сердечных сокращений (ЧСС) (Higgins G.S. et al., 1998). Влияние было более выраженным на диастолическое АД, по сравнению с систолическим АД. Это связано со снижением периферической артериальной резистентности, по данным доплерографии бедренной артерии (диаметр не изменялся, но изменялась скорость кровотока). Эти гемодинамические эффекты не наблюдались на фоне плацебо. Экскреция цГМФ повышалась на 65,4% после введения L-аргинина и на 25,1% — после применения плацебо. Экскреция с мочой NO<sub>3</sub> повышалась на 79,7% после введения L-аргинина. Плазменная концентрация L-аргинина повышалась примерно в 10 раз после инфузии препарата и во столько же раз повышалась экскреция цГМФ с мочой. Тем не менее, плазменная концентрация NO<sub>2</sub> и NO<sub>3</sub> оставалась неизменной при обоих вариантах лечения — L-аргинином и плацебо. Агрегация тромбоцитов уменьшалась на 32,7% после введения препарата ( $p<0,05$ ) и не изменялась на фоне плацебо. Внутриклеточная концентрация цГМФ в тромбоцитах повышалась на 43% после введения L-аргинина и не изменялась после плацебо ( $p<0,05$ ) (Bode-Böger S.M. et al., 1994). Применение L-аргинина не оказывало влияния на активность nNOS, eNOS или белокрастворимой гуанилатциклазы, что не соответствовало повышению уровня цГМФ. Введение L-аргинина дает субстрат для синтеза NO, который стимулирует растворимую гуанилатциклазу и увеличивает синтез цГМФ. Активность nNOS на фоне применения L-аргинина не меняется *in vivo*.

Применение L-аргинина не оказывало влияния на ЧСС в ответ на экзогенное введение норадреналина. Другими словами, L-аргинин действует на пресинаптические волокна, не оказывая влияния на передачу импульса на постсинаптические  $\beta$ -адренорецепторы (Lee C. et al., 2009).

В исследовании L.Y. Chen и соавторов (1996) показано, что путь L-аргинин-NO вовлечен в процесс активации тромбоцитов и вазоконстрикции по средствам перикисного окисления липидов. Перекисноокисленные липиды первично стимулируют тромбоциты, влияют на экспрессию NOS, уменьшая захват ими L-аргинина.

NO — сильный вазодилататор, который снижает агрегацию и адгезию тромбоцитов, уменьшает взаимодействие моноци-

тов с сосудистой стенкой и тормозит пролиферацию гладкомышечных клеток. Все эти процессы активизируются на начальных этапах АС (Cooke J.P., Tsao P.S., 1994). P.S. Tsao и соавторы (1994) продемонстрировали, что пероральное применение L-аргинина снижает активацию тромбоцитов и ингибирует адгезию моноцитов к эндотелиальным клеткам у кроликов с гиперхолестеринемией. Ингибирование этого эффекта с помощью L-NMMA показало, что механизм действия связан с повышением синтеза из L-аргинина NO. В ряде исследований у людей продемонстрировано, что L-аргинин позитивно влияет на функцию тромбоцитов на фоне гиперхолестеринемии, а именно — снижает агрегацию тромбоцитов и адгезию моноцитов (Wolf A. et al., 1997). В одном исследовании показано, что пероральное применение L-аргинина (7 г 3 раза в сутки в течение 3 дней) у здоровых людей молодого возраста (27–37 лет) ингибирует агрегацию тромбоцитов путем опосредованным NO. Тем не менее, влияния на системную гемодинамику, уровень нитрозильных протенинов (маркеров продукции NO *in vivo*) и ПВ не наблюдалось. Доза 12 г/сут достаточна, согласно данным ряда исследований, для снижения агрегации тромбоцитов и адгезии моноцитов, в то время как для улучшения эндотелийзависимой дилатации могут потребоваться более высокие дозы препарата (Adams M.R. et al., 1995; Clarkson P. et al., 1996; Wolf A. et al., 1997). В определенных дозах L-аргинин может вызывать повышение продукции NO тромбоцитами (Adams M.R. et al., 1995).

Существует масса доказательств того, что введение L-аргинина (внутривенно, внутриартериально, перорально) улучшает эндотелиальную функцию при гиперхолестеринемии и АС. Например, его внутривенное введение 16 г/сут в течение 3 нед улучшает ПВ поверхностной бедренной артерии у пациентов с перемежающейся хромотой (Böger R.H. et al., 1998). При АГ эффективность препарата не была настолько однозначной (Creager M.A. et al., 1992). ДЭ является признаком эссенциальной АГ. ДЭ была выявлена в различных сосудистых ложах в ответ на рецептор-опосредованные (ацетилхолин, брадикинин, субстанция P), механические (повышение напряжения сдвига) и смешанные (динамические упражнения и холодовой прессорный тест) раздражители. Считается, что при АГ снижение образования NO обусловлено уменьшением экспрессии эндотелиальной NOS (Loscalzo J. et al., 2004).

ДЭ, ассоциирующаяся с эссенциальной (первичной) АГ, характеризуется нарушением биоактивности NO в результате повреждающего воздействия свободных радикалов (Gerich J.E. et al., 1974). Свободные радикалы могут генерироваться неферментным и ферментным путем посредством активации NADPH-оксидазы, ксантиоксидазы, циклооксигеназы; продукция супероксида может быть результатом истощения запасов кофактора BH<sub>4</sub> (MacAllister R.J. et al., 1995). При эссенциальной АГ повышается уровень эндотелина-1,

баланс сдвигается в сторону вазоконстрикции и пролиферации.

Нарушение ПВ при эссенциальной АГ рассматривается как один из механизмов повышения АД и поддержания АГ. Хотя ДЭ не является специфичным состоянием для АГ, она является признаком высокого риска серьезного ССЗ, поскольку выявляется диссоциация между степенью ДЭ и АД.

Применение L-аргинина предупреждает развитие АГ у солчувствительных крыс, что не наблюдается у спонтанно гипертонивных животных. У здоровых субъектов внутривенное введение L-аргинина имеет вазодилатирующий и антигипертензивный эффект (Calver A. et al., 1991). В небольшом контролируемом исследовании пациенты с АГ, рефрактерные к эналаприлу и гидрохлоротиазиду, после добавления L-аргинина перорально (2 г 3 раза в сутки) достигли целевого уровня АД (Pezza V. et al., 1998). Предварительные данные еще одного исследования показали, что пероральное и внутривенное введение адекватных доз L-аргинина достоверно снижает АД у здоровых волонтеров. A. Siani и соавторы (2000) показали достоверное снижение систолического и диастолического АД (на 5–7 мм рт. ст.) у здоровых пациентов при применении ими L-аргинина в дозе 10–14 г/сут.

L-аргинин снижает концентрацию эндотелина-1, потенциального вазоконстриктора и важного модулятора ДЭ (возможно, более важного, чем NO) по мере старения (Lerman A. et al., 1998).

В одном небольшом двойном слепом контролируемом исследовании с участием 35 пациентов с эссенциальной АГ одноразовое применение 6 г L-аргинина улучшало ПД плечевой артерии. Внутривенное введение L-аргинина (15 мг/кг массы тела в 1 мин в течение 35 мин) улучшало сосудисто-легочный индекс и сердечный выброс у пациентов с легочной гипертензией. В исследовании выявлено небольшое, но достоверное увеличение периода перед изгнанием, что свидетельствует о генерализованном симпатолитическом эффекте L-аргинина, который может приводить к снижению реноваскулярного сопротивления и уменьшению объема циркулирующей крови. В будущем необходимы исследования для уточнения дозы и механизмов данного эффекта (Lerman A. et al., 1999).

Большинство исследований с участием L-аргинина были посвящены изучению его эффективности относительно эндотелиальной функции, формирования атеромы и агрегации тромбоцитов. Оценка влияния L-аргинина на функцию вегетативной нервной системы показала, что внутривенное применение препарата сопровождается NO-независимым эффектом, таким как влияние на секрецию гормонов, повышение pH и высокая осмолярность. Энтеральное применение L-аргинина не сопровождается подобными эффектами, поскольку концентрация препарата в плазме крови относительно низкая, в пределах физиологической, поэтому не связанные с NO эффекты не наблюдаются. Тем не менее, в одном исследовании показано, что пер-

оральное применение L-аргинина может достоверно уменьшать периферическую кардиальную гиперактивность у мышей. К тому же, L-аргинин повышает уровень предсердного цГМФ (Lee C. et al., 2009). На сегодняшний день существует достаточное количество доказательств того, что путь L-аргинин — NO — цГМФ играет важную нейромодулирующую роль в функционировании вегетативной нервной системы: увеличивает вагусное влияние и ингибирует симпатический компонент (Lee C. et al., 2009).

Интересные данные получены в ходе еще одного исследования — на фоне применения L-аргинина наблюдали достоверное снижение уровня тирозингидролазы в миокарде. Вероятно, это связано с тем, что цГМФ активирует фосфодиэстеразу-2, что приводит к повышению гидролиза циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). Фосфодиэстераза-2 находится в миоцитах, центральной нервной системе и звездчатом узле, иннервирующем сердце (Lee C. et al., 2009). Снижение уровня цАМФ приводит к уменьшению взаимодействия с цАМФ ответственных элементов доменов гена тирозингидролазы и приводит к снижению ее экспрессии (Trifaro J.M., 2002).

У гипертонивных крыс по сравнению с нормотонивными животными увеличивается генерация супероксида в артериальной стенке и головном мозгу, в то время как антиоксидантная емкость снижается (Hamilton C.A. et al., 2001). NO реагирует с супероксидом, в результате чего формируется пероксинитрит. Образование пероксинитрита наблюдается в церебральных артериях и нервных клетках около очага ишемии у постинсультных животных (Tabuchi M. et al., 2002). Пероксинитрит ингибирует супероксиддисмутазу, уменьшает антиоксидантную емкость (Anderson T.J., 1999). В условиях ограниченного доступа кофактора  $\text{BH}_4$  и/или L-аргинина, NOS генерирует супероксид, а не NO. Как супероксид, так и пероксинитрит окисляют  $\text{BH}_4$ , что блокирует функционирование NOS и формирование супероксида. Пероксинитрит индуцирует нитрозилирование и деполимеризацию F-актина в гладкомышечных клетках, что приводит к утрате миогенного тонуса церебральными артериями крыс (Maheen M.J. et al., 2007). Дисфункция NOS в сосудах, ассоциирующаяся с различными патологическими состояниями (возраст, СД, АС, АГ), является обратимой *in vitro* при добавлении ингибиторов L-аргиназы,  $\text{O}_2$ -скавенджеров, L-аргинина,  $\text{BH}_4$  или сепиаптерина (Durante W. et al., 2007; Delp M.D. et al., 2008; Heffernan K.S. et al., 2008).

Введение L-аргинина уменьшает размер очага инфаркта мозга в экспериментальных условиях, что свидетельствует о том, что система L-аргинин-NO может быть новой терапевтической мишенью у людей с церебральной ишемией.

Инфузия L-аргинина увеличивает мозговой кровоток у экспериментальных животных (Morikawa E. et al., 1992). Ряд авторов показали, что L-аргинин расширяет пиальные артерии и увеличивает церебральный кровоток у крыс. Эти данные свидетельствуют о том, что NO является

важным медиатором церебральной циркуляции (Morikawa E. et al., 1994). Установлено, что NO является медиатором повышения церебрального кровотока, связанного с активацией головного мозга. Введение ингибитора NOS ослабляет сосудистый ответ на нейрональную активацию.

В одном исследовании изучалось влияние L-аргинина на базальный церебральный кровоток и ответ на стимуляцию (изменение церебрального кровотока в зависимости от активности нейронов оценивалось с использованием позитронно-эмиссионной томографии и количественного  $\text{H}_2^{15}\text{O}$  метода) (Reutens D. et al., 1997). В исследовании принимали участие 12 здоровых людей молодого возраста (6 человек составили контрольную группу, средний возраст — 22,8 года, получали 500 мл 0,9% раствора NaCl и 6 человек — основная группа, средний возраст — 26,7 года, которые получали L-аргинин внутривенно из расчета 300 мл/кг; длительность инфузии составляла 30 мин). Базисное (без стимуляции) сканирование проводили на 20-й и 45-й минуте после начала инфузии. Сканирование при стимуляции (вибрация в правой руке) проводили на 30-й и 55-й минуте после начала инфузии. В результате выявлено, что базисный уровень кровотока в обеих группах не отличался и составил в группе физиологического раствора 35,8±5,9 мл на 100 г (среднее значение ± ошибка) и 34,9±3,7 мл на 100 г в группе L-аргинина. Позитронно-эмиссионная томография, проведенная без стимуляции, выявила достоверно больший (на 9,5%,  $p < 0,005$ ) церебральный кровоток в группе L-аргинина, в отличие от группы физиологического раствора, где прирост кровотока составил 0,3%. Эффект L-аргинина длился не более 45 мин после начала инфузии (кровоток восстановился до 33,4±4,5 мл на 100 г/мин) и отмечался преимущественно в сером веществе. В коре и субкортикальных зонах церебральный кровоток повысился на 14 и 16% ( $p < 0,05$ ) соответственно, в отличие от семиовальных центров, где кровоток повышался только на 6,9% ( $p > 0,05$ ). Стимулированный мозговой кровоток повышался как в группе физиологического раствора, так и в группе L-аргинина без статистически значимых отличий. Введение L-аргинина ассоциировалось со статистически значимым повышением в плазме уровня L-аргинина ( $p < 0,001$ ), L-цитруллин ( $p < 0,05$ ) и гормона роста, однако через 45 мин после начала инфузии L-аргинина, когда глобальный церебральный кровоток возвращался на исходные позиции, уровень гормона роста в плазме крови продолжал повышаться (10,3±5,5;  $p < 0,01$ ). Наблюдаемое повышение уровня инсулина в плазме крови после инфузии L-аргинина не имело статистической значимости. В течение инфузии L-аргинина не было статистически значимых изменений  $\text{pCO}_2$ , но pH артериальной крови снижался с 7,4±0,3 до 7,36±0,01 ( $p < 0,01$ ). Эти изменения продолжались (7,36±0,02) даже когда церебральный кровоток возвращался к исходному уровню (через 45 мин после

начала инфузии). Изменения ЧСС и АД после инфузии препарата не достигли статистической значимости. Таким образом, инфузия L-аргинина вызывала повышение базального церебрального кровотока на 9,5%, преимущественно в сером веществе, по сравнению с белым веществом головного мозга. На активированный кровоток инфузия L-аргинина не оказывала влияния (Reutens D. et al., 1997).

Исследование дало возможность сделать три основных вывода (Reutens D. et al., 1997). Во-первых, инфузия L-аргинина ассоциируется с повышением в плазме крови уровня L-цитрулина, продукта синтеза NO (Hishikawa K. et al., 1991). Во-вторых, после инфузии L-аргинина наблюдается повышение уровня в плазме крови и экскреции с мочой цГМФ, вторичного мессенджера NO (Hishikawa K. et al., 1991; Bode-Böger S.M. et al., 1994). И, в-третьих, ингибирование синтеза NO вызывает в церебральных сосудах крыс истощение вазодилатирующего ответа на L-аргинин (Morikawa E. et al., 1992). Система L-аргинин-NO может оказывать влияние на автономную регуляцию церебрального кровотока; для получения прямых доказательств NO-опосредованного механизма влияния L-аргинина требуется применение ингибиторов NOS, что по отношению к людям неэтично и на данный момент развития науки невозможно.

Результаты исследования не подтвердили данных о том, что гиперинсулинемия опосредует вазодилатирующий эффект L-аргинина (Reutens D. et al., 1997). Мягкие изменения pH, наряду с отсутствием влияния на  $pCO_2$ , не являются значимыми для церебрального кровотока.

Наиболее вероятно, что точкой приложения L-аргинина является эндотелий церебральных сосудов, поскольку L-аргинин очень медленно проходит через гематоэнцефалический барьер, а повреждение эндотелия влияет на ответ пиллярных артерий на введение L-аргинина (Rosenblum W.I. et al., 1990). Более того, вызванная L-аргинином вазодилатация может быть заблокирована путем введения L-аргинин-метилэфира в концентрации и временном интервале, недостаточном для блокирования nNOS (Morikawa E. et al., 1992). Еще раз хотелось бы отметить, что синтез NO в эндотелиальных клетках можно усиливать путем повышения концентрации субстрата. Субстратзависимость конституциональной NOS может зависеть от физиологической концентрации L-глутамата (Arnal J.F. et al., 1995).

В исследовании D. Reutens и соавторов (1997) выявлено, что на фоне инфузии L-аргинина кровоток увеличивался более значительно в сером веществе головного мозга, чем в белом веществе. Считается, что данная картина может быть обусловлена насыщенностью сосудов, либо локальной разницей в концентрации NOS или переносчика АК в эндотелиальных клетках.

В ряде исследований показано, что NO является медиатором повышения церебрального кровотока при нейрональной активации (Dirnagl U. et al., 1993). В данном

исследовании введение L-аргинина не влияло на активированный кровоток, несмотря на достоверное увеличение общего кровотока (Reutens D. et al., 1997). Эти результаты соответствуют данным других исследователей о том, что активированный кровоток в коре головного мозга не зависит от системного кровотока. Объяснением этому может быть три теории. Во-первых, может быть полная насыщенность L-аргинином в процессе физиологической активации (Dirnagl U. et al., 1993). Во-вторых, нейрональный NO не поддается влиянию вводимого L-аргинина (Ma J. et al., 1996). Так, у мышей с заблокированной nNOS наблюдалась физиологическая вазодилатация, обусловленная действием eNOS. Вероятно, eNOS не является медиатором ответа церебрального кровотока на нейрональную активацию. В-третьих, повышение локального кровотока ассоциируется с матросенсорной активностью и может не быть обусловлено NO вообще. Возможно, что NO является разрешающим фактором, медиатором или может быть необходимым, но непосредственно не обуславливает повышение церебрального кровотока при нейрональной активации.

Применение L-аргинина как препарата для коррекции ДЭ имеет ряд особенностей. Через 20–30 мин после внутривенной инфузии регистрируется пик плазменной концентрации препарата, который составляет 0,8 ммоль после 6 г L-аргинина, 4,8 ммоль — после введения 14 г L-аргинина и 6,2; 6,5 и 8,0 ммоль — после 30 г L-аргинина. Пик концентрации L-аргинина в плазме крови после перорального применения 6 г L-аргинина составляет 0,31 ммоль, а  $T_{max}$  = 90 мин (Bode-Böger S.M. et al., 1994; 1999). Пероральное применение 10 г L-аргинина ассоциировалось с пиком концентрации в плазме крови 0,29 ммоль через 60 мин после введения препарата. Эти данные свидетельствуют о пропорциональном повышении в плазме крови концентрации L-аргинина после введения препарата в высоких дозах (Tangphao O. et al., 1999).

Перорально введенный L-аргинин быстро и практически полностью абсорбируется щеточной каемкой тонкого кишечника через мембрану путем активного захвата транспортной системой тонкого кишечника и активно метаболизируется энтероцитами. Данные, полученные для биодоступности препарата при пероральном применении, колеблются в пределах  $21 \pm 4\%$  (5–50%) и  $68 \pm 9\%$  (51–87%) (Bode-Böger S.M. et al., 1994; Tangphao O. et al., 1999). Печень не оказывает существенного влияния на первый круг метаболизма АК, поскольку транспортная система гепатоцитов имеет очень низкую активность, что обеспечивает почти полную автономность метаболизма L-аргинина в гепатоцитах от системной циркуляции.

Период полувыведения L-аргинина после перорального применения в дозе 6 г составляет 1,5–2 ч (Bode-Böger S.M. et al., 1994). В дальнейшем выяснили, что повторное применение препарата на период

полувыведения не влияет. При внутривенном введении L-аргинина в более высоких дозах период полувыведения был короче, чем при пероральном применении.

В физиологических условиях экскреция L-аргинина почками играет незначительную роль в его элиминации. L-аргинин фильтруется в почечных клубочках и практически полностью (>99%) реабсорбируется в проксимальных канальцах и тонкой восходящей части петли Генле. Реабсорбция обеспечивается транспортной системой, действующей на основе контраста концентрации АК.

L-аргинин хорошо переносится при внутриаартериальном, внутривенном и пероральном применении в дозе  $\leq 30$  г. При внутривенном введении L-аргинина в высоких дозах возможно локальное покраснение и развитие флебита из-за высокой осмолярности раствора. Рекомендуемое разведение препарата — до 10%. Пероральное применение L-аргинина может вызвать тошноту и рвоту с частотой приблизительно 3%. У пациентов с фиброзом желчного пузыря, применяющих L-аргинин перорально, возможны спазмы и вздутие живота.

Итак, L-аргинин является предшественником для эндогенного синтеза NO (Palmer R.M. et al., 1988; Schmidt H.H. et al., 1988). Только малая часть L-аргинина в организме метаболизируется по этому пути. NO — высокореактивный радикал и важная молекула-мессенджер — нейротрансмиттер, вазодилататор, вовлеченный в процессы воспаления и регулирования экспрессии генов. В низких концентрациях, которые образуются в результате действия конституциональной eNOS в сосудистой стенке, NO действует как паракринная сигнальная молекула, обуславливающая, прежде всего, вазодилатацию, ингибирование активности тромбоцитов, угнетение адгезии моноцитов и лейкоцитов, ингибирование пролиферации гладкомышечных клеток, контролирование процесса сосудистого оксидативного стресса и экспрессию генов, регулирующих окислительно-восстановительные реакции (Palmer R.M. et al., 1987).

На животных моделях, а затем у человека выявлено, что биологическая функция эндотелия (опосредованная действием NO) нарушается при различных заболеваниях, что приводит к дисрегуляции эндотелиального контроля сосудистого тонуса и кровотока. Моделями для изучения были кролики с гиперхолестеринемией, крысы с АГ и обезьяны с гиперлипидемией и др. (Böger R.H. et al., 1995). Механизм, лежащий в основе этого феномена, вероятно, является мультифакторным, включающим уменьшение выработки NO NOS, повышение оксидативной инактивации NO, увеличенное образование вазоконстрикторов, таких как эндотелин-1 и тромбосан  $A_2$ .

Взаимосвязь между сосудистыми факторами риска, ДЭ в дальнейшем, развитием АС и его осложнений является основой для формирования стратегии терапии при сосудистом поражении. Традиционное направление включает коррекцию основных факторов риска, а именно:

Таблиця 2

Состояния, при которых L-аргинин продемонстрировал улучшение клинических конечных точек

Заболевание	L-аргинин, доза	Эффект	Источник
Заболевания периферических артерий	По 8 г внутривенно 3 раза в сутки 30 г внутривенно	Увеличение дистанции ходьбы Увеличение скорости кровотока в мышцах в покое	Böger R.H. et al., 1998 Schellong S.M. et al., 1997
Заболевания коронарных артерий	По 3 г перорально 3 раза в сутки	Уменьшение выраженности боли	Lerman A. et al., 1998
Застойная сердечная недостаточность	По 2 г перорально 3 раза в сутки	Увеличение возможности выполнять упражнения	Степанов Ю.М. и др., 2004
Вибрационная болезнь	5,6–12,6 г/сут перорально 8,5 мг/мин внутриаартериально	Увеличение возможности выполнять упражнения Снижение частоты вазоспастических атак	Rector T.S. et al., 1996 Степанов Ю.М. и др., 2004

контроль АД, гликемии, снижение уровня ХС, отказ от курения, ограничение употребления алкоголя, уменьшение избыточной массы тела. В то же время перспективным является направление, основанное на восстановлении баланса между продукцией и катаболизмом NO. Терапия L-аргином может вызывать дополнительную защиту сосудов (табл. 2).

Эффект L-аргинина при ДЭ не является универсальным феноменом. Он зависит от изучаемого участка артерии, наличия или отсутствия ДЭ, морфологических АС изменений, наличия ССЗ и достигаемой концентрации L-аргинина. Вероятно, такая стратегия могла бы быть наиболее эффективной на субклиническом уровне у пациентов с сосудистыми факторами риска (АГ, СД, курящих, особенно в сочетании с гиперхолестеринемией), вызывающими существенное повреждение сосудов (Celermajer D.S. et al., 1993).

**Литература**

Степанов Ю.М., Кононов И.Н., Журбина А.И., Филиппова А.Ю. (2004) Аргинин в медицинской практике (обзор литературы). Журн. АМН України, 10: 340–352.

Achan V., Broadhead M., Malaki M. et al. (2003) Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23: 1455–1459.

Adams M.R., Forsyth C.J., Jessup W. et al. (1995) Oral L-arginine inhibits platelet aggregation but does not enhance endothelium-dependent dilation in healthy young men. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 26: 1054–1061.

Anderson T.J. (1999) Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 34: 631–638.

Arnal J.F., Munzel T., Venema R.C. et al. (1995) Interactions between L-arginine and L-glutamine change endothelial NO production. *J. Clin. Invest.*, 95: 2565–2572.

Bachetti T., Comini L., Francolini G. et al. (2004) Arginase pathway in human endothelial cells in pathophysiological conditions. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 37: 515–523.

Bai Y., Sun L., Yang T. et al. (2009) Increase in fasting vascular endothelial function after short-term oral L-arginine is effective when baseline flow-mediated dilation is low: a metaanalysis of randomized controlled trials. *Am. J. Clin. Nutr.*, 89: 77–84.

Berkowitz D.E., White R., Li D. et al. (1982) Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation*, 108: 2000–2006.

Besset A., Bonardet A., Rondouin G. et al. (1982) Increase in sleep related GH and PrI secretion after chronic arginine aspirate administration in man. *Acta Endocrinol. (Copenh.)*, 99: 18–23.

Blum A., Hathaway L., Mincemoyer R. et al. (2000) Oral L-arginine in patients with coronary artery disease on medical management. *Circulation*, 101: 2160–2164.

Bode-Böger S.M., Böger R.H., Creutzig A. et al. (1994) L-arginine infusion decreases periph-

eral arterial resistance and inhibits platelet aggregation in healthy volunteers. *Clin. Sci.*, 87: 303–310.

Bode-Böger S.M., Böger R.H., Galland A. et al. (1998) L-Arginine-induced vasodilation in healthy humans: pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 46: 489–497.

Bode-Böger S.M., Böger R.H., Löffler M. et al. (1999) L-arginine stimulates NO-dependent vasodilation in humans — effect of somatostatin pretreatment. *J. Invest. Med.*, 47: 43–50.

Bode-Böger S.M., Muke J., Surdacki A. et al. (2003) Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years. *Vasc. Med.*, 8: 77–81.

Böger G.I., Rudolph T.K., Maas R. et al. (2007) Asymmetric dimethylarginine determines the improvement of endothelium-dependent vasodilation by simvastatin: effect of combination with oral L-arginine. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 49: 2274–2282.

Böger R.H., Bode-Böger S.M., Mugge A. et al. (1995) Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis*, 117: 273–284.

Böger R.H., Bode-Böger S.M., Thiele W. et al. (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.

Böger R.H., Sydow K., Borlak J. et al. (2000) LDL Cholesterol upregulates synthesis of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in human endothelial cells. Involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyl-transferases. *Circ. Res.*, 87: 99–105.

Bredt D.S., Hwang P.M., Glatt C.E. et al. (1991) Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature*, 351: 714–718.

Brittenden J., Heys S.D., Ross J. et al. (1994) Natural cytotoxicity in breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy: effects of L-arginine supplementation. *Eur. J. Surg. Oncol.*, 20: 467–472.

Brown-Borg H.M., Rakoczy S.G. (2003) Growth hormone administration to long-living dwarf mice alters multiple components of the anti-oxidative defense system. *Mech. Ageing Dev.*, 124: 1013–1024.

Brune B., Messmer U.K., Sandau K. (1995) The role of nitric oxide in cell injury. *Toxicol. Lett.*, 82–83: 233–237.

Brunner H., Cockcroft J.R., Deanfield J. et al. (2005) Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J. Hypertens.*, 23: 233–246.

Brunner H., Cockcroft J.R., Deanfield J. et al.; Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension (2005) Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J. Hypertens.*, 23: 233–246.

Buga G.M., Singh R., Pervin S. et al. (1996) Arginase activity in endothelial cells: Inhibition by NG-hydroxyarginine during high-output nitric oxide production. *Am. J. Physiol.*, 271: 1988–1998.

Calver A., Collier J., Vallance P. (1991) Dilator actions of arginine in human peripheral vasculature. *Clin. Sci.*, 81: 695–700.

Castillo L., Sanchez M., Vogt J. et al. (1995) Plasma arginine, citrulline, and ornithine kinetics in adults, with observations on nitric oxide synthesis. *Am. J. Physiol.*, 268: 360–367.

Celermajer D.S., Sorensen K.E., Georgakopoulos D. et al. (1993) Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*, 88: 2149–2155.

Celermajer D.S., Sorensen K.E., Spiegelhalter D.J. et al. (1994) Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 24: 471–476.

Chen J., Kuhlencordt P., Urano F. et al. (2003) Effects of chronic treatment with L-arginine on atherosclerosis in apoE knockout mice and apoE/iNOS double knockout mice. *Arterio. Thromb. Vasc. Biol.*, 22: 97–103.

Chen L.Y., Mehta P., Mehta J.L. (1996) Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets: Relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function. *Circulation*, 93: 1740–1746.

Chin-Dusting J.P., Alexander C.T., Arnold P.J. et al. (1996) Effects of *in vivo* and *in vitro* L-arginine supplementation on healthy human vessels. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 28: 158–166.

Clarkson P., Adams M.R., Powel A.J. et al. (1996) Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J. Clin. Invest.*, 97: 1989–1994.

Cooke J.P. (2000) Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 20: 2032–2037.

Cooke J.P. (2000) The endothelium: a new target for therapy. *Vasc. Med.*, 5: 49–53.

Cooke J.P., Singer A.H., Tsao P. et al. (1992) Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J. Clin. Invest.*, 90: 1168–1172.

Cooke J.P., Tsao P.S. (1994) Is NO an anti-atherogenic molecule? *Arterioscler. Thromb.*, 14: 653–655.

Creager M.A., Cooke J.P., Mendelsohn M.E. et al. (1990) Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.*, 86: 228–234.

Creager M.A., Gallagher S.J., Girerd X.J. et al. (1992) L-Arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.*, 90: 1248–1253.

Csiszar A., Wang M., Lakatta E.G., Ungvari Z. (2008) Inflammation and endothelial dysfunction during aging: role of NF-kappa B. *J. Appl. Physiol.*, 105: 1333–1341.

Daly J.M., Reynolds J., Sigal R.K. et al. (1990) Effect of dietary protein and amino acids on immune function. *Crit. Care Med.*, 18: 86–93.

Dayoub H., Achan V., Adimoolam S. et al. (2003) Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation*, 108: 3042–3047.

Deanfield J.E., Halcox J.P., Rabelink T.J. (2007) Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*, 115: 1285–1295.

Delp M.D., Behnke B.J., Spier S.A. et al. (2008) Ageing diminishes endotheliumdependent vasodilatation and tetrahydrobiopterin content in rat skeletal muscle arterioles. *J. Physiol.*, 586: 1161–1168.

Dhanakoti S.N., Brosnan J.T., Herzberg G.R., Brosnan M.E. (1990) Renal arginine synthesis: studies *in vitro* and *in vivo*. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 259: 437–442.

- Di Pasquale M.G.** (1997) Amino Acids and Proteins for the Athlete: The Anabolic Edge. New York, CRC Press.
- Dirnagl U., Lindauer U., Villringer A.** (1993) Role of nitric oxide in the coupling of cerebral blood flow to neuronal activation in rats. *Neurosci. Lett.*, 149: 43–46.
- Donato A., Gano L., Eskurza I. et al.** (2009) Vascular endothelial dysfunction with aging: endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 297: 425–432.
- Drexler H., Fischell T.A., Pinto F.J. et al.** (1994) Effect of L-arginine on coronary endothelial function in cardiac transplant recipients: relation to vessel wall morphology. *Circulation*, 89: 1615–1623.
- Durante W., Johnson F.K., Johnson R.A.** (2007) Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 34: 906–911.
- Durante W., Liao L., Peyton K.J., Schaffer A.I.** (1997) Lysophosphatidylcholine regulates cationic amino acid transport and metabolism in vascular smooth muscle cells. Role in polyamine biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, 272: 30154–30159.
- Durante W., Liao L., Reyna S.V. et al.** (2001) Transforming growth factor-beta (1) stimulates L-arginine transport and metabolism in vascular smooth muscle cells: role in polyamine and collagen synthesis. *Circulation*, 103: 1121–1127.
- Faldetta C., Laurenti O., Desideri G. et al.** (2002) L-arginine infusion decreases plasma total homocysteine concentrations through increased nitric oxide production and decreased oxidative status in Type II diabetic patients. *Diabetologia*, 45: 1120–1127.
- Galea E., Regunathan S., Eliopoulos V. et al.** (1996) Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamine formed by decarboxylation of arginine. *Biochem. J.*, 316: 247–249.
- Gates P.E., Boucher M.L., Silver A.E. et al.** (2007) Impaired flow-mediated dilation with age is not explained by L-arginine bioavailability or endothelial asymmetric dimethylarginine protein expression. *J. Appl. Physiol.*, 102: 63–71.
- Gerich J.E., Lorenzi M., Schneider V. et al.** (1974) Inhibition of pancreatic glucagon responses to arginine by somatostatin in normal man and in insulin-dependent diabetics. *Diabetes*, 23: 876–880.
- Giugliano D., Marfella R., Verrazzo G. et al.** (1997) The vascular effects of L-arginine in humans. *J. Clin. Invest.*, 99: 433–438.
- Gornik H., Creager M.** (2004) Arginine and Endothelial and Vascular Health. *J. Nutr.*, 134: 2880–2887.
- Greager M.A.** (1997) L-arginin in endothelial and vascular health. *J. Nutr.*, 10: 2880–2887.
- Hamilton C.A., Brosnans M.J., McIntyre M. et al.** (2001) Superoxide excess in hypertension and aging: a common cause of endothelial dysfunction. *Hypertension*, 37: 529–534.
- Hayde M., Vierhapper H., Lubec B. et al.** (1994) Low-dose dietary L-arginine increases plasma interleukin 1 alpha but not interleukin 1 beta in patients with diabetes mellitus. *Cytokine*, 6: 79–82.
- Hecker M., Sessa W.C., Harris H.J. et al.** (1990) The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 8612–8616.
- Heffernan K.S., Fahs C., Ranadive S., Patvardhan E.** (2010) L-Arginine as a Nutritional Prophylaxis Against Vascular Endothelial Dysfunction With Aging. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, 15: 17–23.
- Heffernan K.S., Fernhall B.** (2009) Hemodynamic and vascular response to resistance exercise with L-arginine. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 41: 773–779.
- Heffernan K.S., Vieira V.J., Valentine R.J.** (2008) Microvascular function and ageing L-arginine, tetrahydrobiopterin and the search for the fountain of vascular youth. *J. Physiol.*, 586: 2041–2042.
- Heitzer T., Schlinzger T., Krohn K. et al.** (2001) Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 104: 2673–2678.
- Hishikawa K., Nakaki T., Suzuki H. et al.** (1991) L-arginine induced hypotension. *Lancet*, 337: 684.
- Hornig B., Arakawa N., Böger R.H. et al.** (1998) Plasma levels of ADMA are increased and inversely related to endothelium-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure: a new predictor of endothelial dysfunction? *Circulation*, 98: 318.
- Huggins G.S., Pasternak R.C., Alpert N.M. et al.** (1998) Effect of short term treatment of hyperlipidemia on coronary vasodilator function and myocardial perfusion in regions having substantial impairment of baseline dilator reverse. *Circulation*, 98: 1291–1296.
- Huk I., Nanobashvili J., Neumayer C. et al.** (1997) L-arginine treatment alters the kinetics of nitric oxide and superoxide release and reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *Circulation*, 96: 667–675.
- Ignarro L.J., Buga G.M., Wood K.S. et al.** (1987) Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 9265–9269.
- Imaizumi T., Hirooka, Y., Masaki H. et al.** (1992) Effects of L-arginine on forearm vessels and responses to acetylcholine. *Hypertension*, 20: 511–517.
- Isidori A., Lo Monaco A., Cappa M.** (1981) A study of growth hormone release in man after oral administration of amino acids. *Curr. Med. Res. Opin.*, 7: 475–481.
- Kearney-Schwartz A., Rossignol P., Bracard S. et al.** (2009) Vascular structure and function is correlated to cognitive performance and white matter hyperintensities in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *Stroke*, 40: 1229–1236.
- Kim P.S., Iyer R.K., Lu K.V. et al.** (2002) Expression of the liver form of arginase in erythrocytes. *Mol. Genet. Metab.*, 76: 100–110.
- Kuboki K., Jiang Z.Y., Takahara N. et al.** (2000) Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and *in vivo*: a specific vascular action of insulin. *Circulation*, 101: 676–681.
- Kuvin J.T., Karas R.H.** (2003) Clinical utility of endothelial function testing: ready for prime time? *Circulation*, 107: 3243–3247.
- Lee C., Li D., Channon K., Paterson D.J.** (2009) L-arginine supplementation reduces cardiac noradrenergic neurotransmission in spontaneously hypertensive rats. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 47: 149–155.
- Lerman A., Burnett J.C. Jr., Higano S.T. et al.** (1998) Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation*, 97: 2123–2128.
- Lerman A., Suwaidi J.A., Velianou J.L.** (1999) L-Arginine: a novel therapy for coronary artery disease? *Expert Opin. Investig. Drugs*, 8: 1785–1793.
- Li G., Regunathan S., Barrow J. et al.** (1994) Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science*, 263: 966–969.
- Li H., Meininger C.J., Hawker J.R. Jr. et al.** (2001) Regulatory role of arginase I and II in syntheses of nitric oxide, polyamines and proline in endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 280: 75–82.
- Li H., Meininger C.J., Hawker J.R. Jr. et al.** (2002) Activities of arginase I and II are limiting for endothelial cell proliferation. *Am. J. Physiol.*, 282: 64–69.
- Lin C.C., Tsai W.C., Chen J.Y. et al.** (2008) Supplements of L-arginine attenuate the effects of high-fat meal on endothelial function and oxidative stress. *Int. J. Cardiol.*, 127: 337–341.
- Lin K.Y., Ito A., Asagami T. et al.** (2002) Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 106: 987–992.
- Loscalzo J.** (2004) L-Arginine and Atherothrombosis. *J. Nutr.*, 134: 2798–2800.
- Loscalzo J., Morris S.M.** (2004) Symposium on Arginine: Conference Summary. *J. Nutr.*, 134: 2896–2897.
- Lyons C.R.** (1995) The role of nitric oxide in inflammation. *Adv. Immunol.*, 60: 323–371.
- Ma J., Ayata C., Huang P.L. et al.** (1996) Regional cerebral blood flow response to vibrissal stimulation in mice lacking type I NOS gene expression. *Am. J. Physiol.*, 270: 1085–1090.
- MacAllister R.J., Calver A.L., Collier J. et al.** (1995) Vascular and hormonal responses to arginine: provision of substrate for nitric oxide or non-specific effect? *Clin. Sci.*, 89: 183–190.
- Maneen M.J., Cipolla M.J.** (2007) Peroxynitrite diminishes myogenic tone in cerebral arteries: role of nitrotyrosine and F-actin. *Am. J. Physiol.*, 292: 1042–1050.
- Marchesi C., Paradis P., Schiffrin E.L.** (2008) Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.*, 29: 367–374.
- 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.
- Maxwell A.S., Anderson B., Zapien M.P. et al.** (2000) Endothelium dysfunction in hypercholesterolemia is reversed by L-arginine. *Cardiovasc. Drugs*, 14: 309–316.
- Mayer B., John M., Heinzl B. et al.** (1991) Brain nitric oxide synthase is a bioprotein and flavincontaining multifunctional oxidoreductase. *FEBS Lett.*, 288: 187–191.
- McConnell G.K.** (2007) Effects of L-arginine supplementation on exercise metabolism. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 10: 46–51.
- McDonald K.K., Zharikov S., Block E.R., Kilberg M.S.** (1997) A caveolar complex between the cationic amino acid transporter 1 and endothelial nitric-oxide synthase may explain the «arginine paradox». *J. Biol. Chem.*, 272: 31213–31216.
- Moncada S., Higgs A.** (1993) The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.*, 329: 2002–2012.
- Mori M., Gotoh T.** (2000) Relationship between arginase activity and nitric oxide production. In: L.J. Ignarro (Ed.) Nitric oxide: biology and pathology. San Diego, CA: Academic Press, P. 199–208.
- Morikawa E., Moskowitz M.A., Huang Z. et al.** (1994) L-arginine infusion promotes nitric oxide-dependent vasodilation, increases regional cerebral blood flow, and reduces infarction volume in the rat. *Stroke*, 25: 429–435.
- Morikawa E., Rosenblatt S., Moskowitz M.A.** (1992) L-arginine dilates rat pial arterioles by nitric oxide-dependent mechanism and increases blood flow during focal cerebral ischemia. *Br. J. Pharmacol.*, 107: 905–907.
- Morris C.R., Kato G.J., Poljakovic M. et al.** (2005) Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *JAMA*, 294: 81–90.
- Morris C.R., Kuypers F.A., Poljakovic M. et al.** (2004) Elevated arginase activity and limited arginine availability: a common feature in asthma and sickle cell disease. *Nitric Oxide*, 11: 112.
- Morris C.R., Morris S.M. Jr., Hagar W. et al.** (2003) Arginine therapy: a new treatment for pulmonary hypertension in sickle cell disease? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 168: 63–69.
- Morris S.I.** (2005) Arginine metabolism in vascular biology and disease. *Vasc. Med.*, 10: 83.
- Nagasaki A., Gotoh T., Takeya M. et al.** (1996) Coincidence of nitric oxide synthase, argininosuccinate synthetase, and argininosuccinate lyase in lipopolysaccharide-treated rats: RNA blot, immunoblot, and immunohistochemical analyses. *J. Biol. Chem.*, 271: 2658–2662.
- Ohara Y., Peterson T.E., Harrison D.G.** (1993) Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J. Clin. Invest.*, 91: 2546–2551.
- Palmer R.M., Ashton D.S., Moncada S.** (1988) Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 333: 664–666.
- Palmer R.M., Ferrige A.G., Moncada S.** (1987) Nitric oxide release accounts for the biological

activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327: 524–526.

**Park K.G., Hayes P.D., Garlick P.J.** (1991) Stimulation of lymphocyte natural cytotoxicity by L-arginine. *Lancet*, 337: 645–646.

**Pegg A.E.** (1986) Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem. J.*, 234: 249–262.

**Perez-Vizcaino F., Duarte J., Andriantsitohaina R.** (2006) Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic. Res.*, 40: 1054–1065.

**Perticone F., Ceravolo R., Pujia A. et al.** (2001) Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation*, 104: 191–196.

**Pezza V., Bernardini F., Pezza E. et al.** (1998) Study of supplemental oral L-arginine in hypertensives treated with enalapril + hydrochlorothiazide. *Am. J. Hypertens.*, 11: 1267–1270.

**Pita A.M., Wakabayashi Y., Fernandez-Bustos M.A. et al.** (2003) Plasma urea-cycle-related amino acids, ammonium levels, and urinary orotic acid excretion in short-bowel patients managed with an oral diet. *Clin. Nutr.*, 22: 93–98.

**Pollock J.S., Forstermann U., Mitchell J.A. et al.** (1991) Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 10480–10484.

**Pritchard K.A., Groszek L., Smalley D.M. et al.** (1995) Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ. Res.*, 77: 510–518.

**Rector T.S., Bank A.T., Mullen K.A. et al.** (1996) Randomized, double-blind, placebo-controlled study of supplemental oral L-arginine in patients with heart failure. *Circulation*, 93: 2135–2141.

**Rees D.D., Palmer R.M.J., Schulz R. et al.** (1990) Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase *in vitro* and *in vivo*. *Br. J. Pharmacol.*, 101: 746–752.

**Reutens D., McHugh M., Toussaint P.J. et al.** (1997) L-Arginine Infusion Increases Basal but not Activated Cerebral Blood Flow in Humans. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 17: 309–315.

**Rosenblum W.I., Nishimura H., Nelson G.H.** (1990) Endothelium-dependent L-Arg- and L-NMMA-sensitive mechanisms regulate tone of brain microvessels. *Am. J. Physiol.*, 259: 1396–1401.

**Schellong S.M., Böger R.H., Burchert W. et al.** (1997) Dose-related effect of intravenous L-arginine on muscular blood flow of the calf in patients with peripheral vascular disease. A 150-water PET study. *Clin. Sci.*, 93: 159–165.

**Schmidt H.H., Nau H., Wittfoht W. et al.** (1988) Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol.*, 154: 213–216.

**Siani A., Pagano E., Iacone R. et al.** (2000) Blood pressure and metabolic changes during dietary L-arginine supplementation in humans. *Am. J. Hypertens.*, 13: 547–551.

**Siasos G., Tousoulis D., Vlachopoulos C. et al.** (2008) Short-term treatment with L-arginine prevents the smoking-induced impairment of endothelial function and vascular elastic properties in young individuals. *Int. J. Cardiol.*, 126: 394–399.

**Siasos G., Tousoulis D., Vlachopoulos C. et al.** (2009) The impact of oral L-arginine supplementation on acute smoking-induced endothelial injury and arterial performance. *Am. J. Hypertens.*, 22: 586–592.

**Stuhlinger M.C., Oka R.K., Graf E.E. et al.** (2003) Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 108: 933–938.

**Stuhlinger M.C., Tsao P.S., Her J.H. et al.** (2001) Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 104: 2569–2575.

**Suessenbacher A., Frick M., Alber H.F. et al.** (2006) Association of improvement of brachial artery flow-mediated vasodilation with cardiovascular events. *Vasc. Med.*, 11: 239–244.

**Surdacki A., Nowicki M., Sandmann J. et al.** (1999) Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in men with essential hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 33: 652–658.

**Sydow K., Bode-Böger S.M., Arakawa N.** (1999) Lowering of high homocyst(e)line plasma levels with folic acid, vitamin B-6, and vitamin B-12 does not improve systemic nitric oxide production or endothelium-dependent vasodilation in patients with intermittent claudication. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 55: 32.

**Tabuchi M., Umegaki K., Ito T. et al.** (2002) Fluctuation of serum NO(x) concentration at stroke onset in a rat spontaneous stroke model (M-SHRSP). Peroxynitrite formation in brain lesions. *Brain Res.*, 949: 147–156.

**Tang K.M., Wang G.R., Lu P. et al.** (2003) Regulator of G-protein signaling-2 mediates vascular smooth muscle relaxation and blood pressure. *Nat. Med.*, 9: 1506–1512.

**Tangphao O., Grossmann M., Chalou S. et al.** (1999) Pharmacokinetics of intravenous and oral L-arginine in normal volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 47: 261–266.

**Tousoulis D., Boger R.H., Antoniadis C. et al.** (2007) Mechanisms of disease: L-arginine in coronary atherosclerosis clinical perspective. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, 4: 274–283.

**Trifaro J.M.** (2002) Molecular biology of the chromaffin cell. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 971: 11–18.

**Tsao P.S., Theilmeier G., Singer A.H. et al.** (1994) L-arginine attenuates platelet reactivity in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler. Thromb.*, 14: 1529–1533.

**Umans J.G., Levi R.** (1995) Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. *Annu. Rev. Physiol.*, 57: 771–790.

**Vallance P., Leone A., Calver A. et al.** (1992) Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*, 339: 572–575.

**Vane J., Anggard E., Botting R.** (1990) Regulatory function of the vascular endothelium. *N. Engl. J. Med.*, 323: 27–36.

**Vanhoutte P.M.** (2008) Arginine and arginase: endothelial NO synthase double crossed? *Circ. Res.*, 102: 866–868.

**Vasquez-Vivar J., Kalyanaraman B., Maratsek P. et al.** (1998) Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 9220–9225.

**Vasquez-Vivar J., Posch K., Wallner S. et al.** (1997) Vascular effects of L-arginine: anything beyond a substrate for the NO synthase? *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 234: 35–38.

**Walker H.A., McGing E., Fisher I. et al.** (2001) Endothelium-dependent vasodilation is independent of the plasma L-arginine/ADMA ratio in men with stable angina: lack of effect of oral L-arginine on endothelial function, oxidative stress and exercise performance. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 38: 499–505.

**Walser M.** (1983) Urea cycle disorders and other hereditary hyperammonemic syndromes. In: J.B. Stanbury, J.B. Wyngaarden, D.S. Frederickson et al. (Eds.) *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. McGraw-Hill, New York, P. 402–438.

**Watford M.** (1991) The urea cycle: a two-compartment system. *Essays Biochem.*, 26: 49–58.

**Wei L.H., Wu G., Morris S.M. Jr., Ignarro L.J.** (2001) Elevated arginase I expression in rat aortic smooth muscle cells increases cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 9260–9264.

**West S.G., Likos-Krick A., Brown P., Mariotti F.** (2005) Oral L-arginine improves hemodynamic responses to stress and reduces plasma homocysteine in hypercholesterolemic men. *J. Nutr.*, 135(2):212–217.

**White M.F.** (1985) The transport of cationic amino acids across the plasma membrane of mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 822: 355–374.

**Widlansky M.E., Gokke N., Keaney J.F. Jr., Vita J.A.** (2003) The clinical implications of endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 42: 1149–1160.

**Williams S.B., Cusco J.A., Roddy M.A. et al.** (1996) Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 27: 567–574.

**Wilson A.M., Harada R., Nair N. et al.** (2007) L-arginine supplementation in peripheral arterial disease: no benefit and possible harm. *Circulation*, 116: 188–195.

**Wink D.A., Cook J.A., Pacelli R. et al.** (1995) Nitric oxide (NO) protects against cellular damage by reactive oxygen species. *Toxicol. Lett.*, 82–83: 221–226.

**Wolf A., Zalpour C., Theilmeier G. et al.** (1997) Dietary L-arginine supplementation normalizes platelet aggregation in hypercholesterolemic humans. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 29: 479–485.

**World Health Organization** (2002) Reducing Risks: Promoting Healthy Life. *World Health Report 2002*. Geneva, World Health Organization.

**Wu G., Davis P.K., Flynn N.E. et al.** (1997) Endogenous synthesis of arginine plays an important role in maintaining arginine homeostasis in postweaning growing pigs. *J. Nutr.*, 127: 2342–2349.

**Wu G., Meininger C.J.** (1995) Impaired arginine metabolism and NO synthesis in coronary endothelial cells of the spontaneously diabetic BB rat. *Am. J. Physiol.*, 269: 1312–1318.

**Wu G., Meininger C.J.** (2000) Arginine nutrition and cardiovascular function. *J. Nutr.*, 130: 2626–2629.

**Wu G., Morris S.M. Jr.** (1998) Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.*, 336: 1–17.

**Wu G., Morris S.M. Jr.** (2004) Arginine metabolism in mammals. In: Cynober LA ed. *Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in clinical nutrition*. Boca Raton, CRC Press, P. 153–167.

**Xie L., Gross S.S.** (1997) Argininosuccinate synthetase overexpression in vascular smooth muscle cells potentiates immunostimulant-induced NO production. *J. Biol. Chem.*, 272: 16624–16630.

**Xu W., Kaneko F.T., Zheng S. et al.** (2004) Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension. *FASEB J.*, 18: 1746–1748.

**Yavuz B.B., Yavuz B., Sener D.D. et al.** (2008) Advanced age is associated with endothelial dysfunction in healthy elderly subjects. *Gerontology*, 54: 153–156.

**Zhang C., Hein T.W., Wang W. et al.** (2001) Constitutive expression of arginase in microvascular endothelial cells counteracts nitric oxide-mediated vasodilatory function. *FASEB J.*, 15: 1264–1266.

**Zhang C., Hein T.W., Wang W. et al.** (2004) Upregulation of vascular arginase in hypertension decreases nitric oxide-mediated dilation of coronary arterioles. *Hypertension*, 44: 935–943.

**Zweier J.L., Samouilov A., Kuppusamy P.** (1999) Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems. *Biochim. Biophys. Acta*, 1411: 250–262.