

Received: 2004.05.25
Accepted: 2004.08.13
Published: 2004.09.01

Arginina – metabolizm i funkcje w organizmie człowieka

Arginine – metabolism and functions in the human organism

Dorota Ścibior, Hanna Czeczot

Katedra i Zakład Biochemii, Akademii Medycznej w Warszawie

Streszczenie

L-arginina pełni ważne funkcje w metabolizmie organizmu. Jest prekursorem w syntezie białek i innych związków o podstawowym znaczeniu w przemianach biochemicznych, tj. tlenku azotu, ornityny, poliamin, agmatyny, proliny, glutaminianu, kreatyny, dimetyloargininy, mocznika.

Dla młodych organizmów jest ona aminokwasem niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju, dlatego musi być dostarczona z dietą. U ludzi dorosłych jest syntetyzowana endogennie, ale w określonych warunkach, szczególnie w stanach chorobowych (np. urazach, oparzeniach, resekcji jelita cienkiego, zaburzeniach czynności nerek i innych) jest niezbędnym czynnikiem odżywczym.

Zastosowanie L-argininy jako leku poprawia funkcje sercowo-naczyniowe, oddechowe, immunologiczne czy trawienne i zapobiega wczesnym fazom rozwoju nowotworu.

Słowa kluczowe:

kluczowe: L-arginina • metabolizm • funkcje

Summary

L-Arginine plays important roles in the metabolism of an organism. It is the precursor for the synthesis of proteins and other molecules of great biological importance, including nitric oxide, ornithine, polyamines, agmatine, proline, glutamate, creatine, dimethylarginine, and urea.

For young organisms arginine is an essential amino acid for optimal growth and development, and must therefore be provided in the diet. For adults, arginine is a conditionally essential amino acid, especially in such conditions as trauma, burn injury, small-bowel resection, and renal failure.

L-Arginine administration improves cardiovascular, pulmonary, immune, and digestive functions and protect against the early stages of cancerogenesis.

Key words:

L-arginine • metabolism • functions

Full-text PDF:

http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/6259.pdf

Word count:

6022

Tables:

–

Figures:

3

References:

83

Author's address: Katedra i Zakład Biochemii, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, e-mail: dorsi@wp.pl

Wykaz skrótów: **GABA** – kwas γ -aminomasłowy; **NO** – tlenek azotu; **NAGS** – syntaza N-acetyloglutaminianowa; **NAG** – N-acetyloglutaminian; **CPS** – syntetaza karbamoilofosforanowa; **NOS** – syntaza tlenu azotu; **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu; **iNOS** – indukowalna syntaza tlenu azotu; **nNOS** – neuronalna syntaza tlenu azotu; **ASS** – syntetaza argininobursztynianowa; **ADC** – dekarboksylaza argininowa; **CAT 1, CAT 2A, CAT 2B, CAT 3** – białka przekaźnikowe; **ASL** – liaza argininobursztynianowa; **P5C** – pirolino-5-karboksylan; **P5CS** – syntaza pirolino-5-karboksylanu; **P5CR** – reduktaza pirolino-5-karboksylanu; **P5CD** – dehydrogenaza pirolino-5-karboksylanu; **OAT** – aminotransferaza ornitynowa; **ASPAT** – aminotransferaza asparaginianowa; **OCT** – karbamoilotransferaza ornitynowa; **PO** – oksydaza prolinowa; **AGAT** – amidnotransferaza arginina: glicyna; **EDRF** – czynnik rozszerzający naczynia; **IFN- γ** – interferon γ ; **LPS** – lipopolisacharyd; **NMMA** – N^G-monometylo-L-arginina; **ADMA** – N^G-dimetylo-L-arginina (asymetryczna dimetyloarginina); **SDMA** – N^G-dimetylo-L-arginina (symetryczna dimetyloarginina); **GA** – guanidynooctan; **GMAT** – N-metylotransferaza guanidynooctanowa

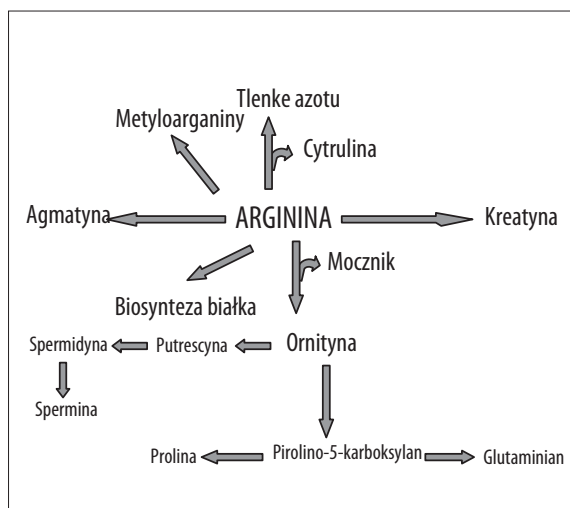
WSTĘP

L-arginina (kwas 2-amino-5-guanidynowalerianowy – Arg) jest endogennym aminokwasem, powstającym głównie w cyklu mocznikowym, który bierze udział w syntezie białek, mocznika, kreatyny, proliny, poliamin (putrescyny, sperminy, spermidyny) czy tlenu azotu (ryc.1). Końcowe produkty jej metabolizmu – zwłaszcza NO, glutaminian (prekursor w syntezie γ -aminomasłanu – GABA) i poliaminy – pełnią funkcje regulacyjne w komórkach organizmu [5,23,46,66].

W procesie powstawania z glutaminianu i acetylo-CoA, N-acetyloglutaminianu (NAG – N-acetylglutamate) L-arginina jest allosterycznym aktywatorem syntazy N-acetyloglutaminianowej (NAGS – N-acetylglutamate synthase). Z kolei NAG jest niezbędnym kofaktorem syntetazy karbamoilofosforanowej (CPS – carbamylphosphate synthetase), głównego enzymu w syntezie argininy i mocznika w cyklu mocznikowym [9]. Oznacza to, że spełnia ona funkcje regulacyjne w swoim własnym metabolizmie. Endogenna arginina może stymulować wydzielanie insuliny, glukagonu, prolaktyny i hormonu wzrostu [46,78].

Ten naturalnie występujący w organizmie aminokwas znany jest od bardzo dawna. Badania nad arginina i jej metabolizmem mają długą historię, a rozpoczęły się ponad 100 lat temu, kiedy w 1886 r. została ona wyizolowana po raz pierwszy z kielków łubinu. W kilka lat później (1895 r.) zidentyfikowano ją jako składnik białek zwierzęcych [26], a wkrótce potem (1897 r.) poznano jej strukturę chemiczną [78].

W 1904 roku zidentyfikowano w wątrobie enzym – arginazę, hydrolizujący argininę do ornityny i mocznika. Badania biochemiczne i fizjologiczne funkcji L-argininy w organizmie rozpoczęły się już w latach 30. XX w. Udowodniono wówczas, że arginina wpływa na prawidłowe funkcjonowanie wątroby, gdzie odgrywa zasadniczą rolę w cyklu mocznikowym, istotnym dla usuwania z ustroju toksycznego amoniaku [30]. Stosunkowo wcześniej, bo w latach 1930–1940 wykazano, że L-arginina jest substratem w syntezie kreatyny, prekursora wskaźnika funkcjonowania nerek – kreatyniny [82].



Ryc. 1. Końcowe produkty metabolizmu argininy

Przeprowadzone w latach 1950–1970 badania wykazały, że L-arginina jest niezbędnym aminokwasem do prawidłowego rozwoju młodych organizmów, a organizmy dorosłe są w stanie syntetyzować ją endogennie. Jednak, coraz częściej uważa się, że zarówno u dzieci jak i u osób dorosłych jest ona niezbędnym aminokwasem do prawidłowego funkcjonowania organizmu i musi być dostarczana z pożywieniem. Ma to szczególne znaczenie w przypadku urazów czy stanów chorobowych (np. resekcja jelita cienkiego, niewydolność nerek i inne) [23,80].

Lata 1980–1990 to czas intensywnych badań metabolizmu L-argininy. W 1981 roku w badaniach na szczurach wykazano, że jelito cienkie jest głównym źródłem cytruliny, potrzebnej do syntezy endogennej argininy [74].

Odkrycie, że NO powstaje z argininy i działa rozkurczowo na naczynia (1988 r.), zmieniło spojrzenie na rolę argininy w wielu fizjologicznych i patologicznych procesach i spowodowało wzrost zainteresowania rolą tego aminokwasu w biochemii, fizjologii oraz odżywianiu ludzi i zwierząt [49].

ŹRÓDŁA ARGININY

Źródłem argininy w organizmie jest pokarm, wewnątrzkomórkowa degradacja białek i jej endogenna synteza. Z pokarmem arginina jest dostarczana jako składnik białek zwierzęcych i roślinnych. Szczególnie bogate w argininę są białka roślinne. Dorosły człowiek spożywa z dietą prawie 5,4 g argininy na dobę [80]. Arginina dostarczona z pokarmem jest uwalniana z białek w procesie trawienia i wchłaniana w jelicie cienkim. Głównym miejscem jej absorpcji jest jelito kręte i czcze. Jednak, ze względu na dużą aktywność arginazy w jelicie cienkim, około 40% argininy pochodzącej z pokarmu jest tutaj degradowane, a pozostała ilość trafia do żyły wrotnej. Uważa się, że około 50% argininy pochodzącej z diety, trafia do układu krążenia [78]. 5–15% argininy w osoczu krwi dorosłego człowieka stanowi arginina zsyntetyzowana endogennie z cytruliny. Całkowite stężenie argininy w osoczu ludzi i zwierząt waha się 95–250 $\mu\text{mol/l}$ i zależy od etapu rozwojowego i stanu odżywiania organizmu [78,80].

U noworodków synteza argininy *de novo* stanowi około 30% całkowitej ilości endogennej argininy, u ludzi dorosłych jedynie 5–15%. Wynika to z różnic w obrocie białkowym (procesach degradacji i resyntezy wewnątrzkomórkowych białek) u noworodków i ludzi dorosłych oraz potrzeb organizmu. Ilość argininy w białkach mleka jest mała i nie zawsze pokrywa zapotrzebowania na ten aminokwas przez młode, szybko rosnące organizmy, dlatego w tych przypadkach synteza endogennej argininy odgrywa ważną rolę w utrzymaniu jej homeostazy [58,80].

W świetle badań homeostaza argininy w organizmie zależy od ilości argininy w diecie, transportu do komórek, obrotu białkowego, syntezy i katabolizmu argininy.

TRANSPORT ARGININY

W komórkach ssaków aminokwasy są wychwytywane i transportowane przez układy przekaźników, umiejscowionych w błonie komórkowej. Najnowsze techniki biologii molekularnej wykazały, że arginina jest transportowana do wnętrza komórek przez bardzo specyficzne nośniki białkowe, określane jako układ przekaźników y^+ , b^{0+} , B^{0+} , czy y^{+L} [19].

Komórki organizmu wykazują różną aktywność poszczególnych przekaźników i tylko ich prawidłowe działanie zapewnia skuteczny wychwyt pozakomórkowej argininy. 70% argininy jest przenoszone do wnętrza komórki za pośrednictwem układu y^+ , a pozostałe 30% przez układy b^{0+} , B^{0+} czy y^{+L} [45,50]. W większości komórek organizmu występuje i funkcjonuje niewrażliwy na zmiany pH i niezależny od jonów Na^+ układ y^+ , odpowiedzialny za transport nie tylko argininy, ale również lizyny i ornityny [13,30]. Odgrywa on szczególną rolę w jelicie cienkim w czasie transportu argininy do wnętrza enterocytów. W hepatocytach funkcjonuje on w niewielkim stopniu, co sprawia, że dostarczana z dietą arginina, tylko w około 10–15% jest pobierana i wykorzystywana przez wątrobę [78,83].

Najbardziej efektywne działanie w komórkach organizmu przekaźnika y^+ jest możliwe dzięki istnieniu rodziny białek przekaźnikowych CAT (CAT-1, CAT-2, CAT-3), kodo-

wanych przez geny *SCL7A1-4*. Dość dobrze poznano białka transbłonowe CAT-1 i CAT-2, kodowane przez geny *SCL7A1* i *SCL7A2*, które są charakterystyczne dla układu y^+ [40].

Białko przekaźnikowe CAT-1 jest zbudowane z pojedynczego łańcucha polipeptydowego o masie cząsteczkowej 67 kDa, który składa się z 622 aminokwasów i tworzy 14 transbłonowych domen (membrane spinning – domains) [19]. Gen kodujący białko CAT-1 ulega ekspresji w większości tkanek organizmu. Natomiast białko CAT-2 charakteryzuje się dużą swoistością tkankową i zawiera dwie izoformy (CAT-2B i CAT-2A). Są one kodowane przez ten sam gen (*SCL7A2*), w ekspresji którego dochodzi do alternatywnego składania (alternative splicing) [40]. CAT-2A jest homologiem strukturalnym CAT-1, różniącym się właściwościami kinetycznymi, tkankową dystrybucją i regulacją ekspresji. Ulega on silnej ekspresji głównie w hepatocytach, w pozostałych komórkach organizmu ekspresja jest dużo mniejsza. Natomiast CAT-2B ulega indukowanej ekspresji tylko w niektórych typach komórek np. makrofagach, astrocytach, limfocytach czy komórkach mięśni gładkich naczyń [44]. Białko nośnikowe CAT-3, o masie cząsteczkowej wynoszącej ~67 kDa, zbudowane z 619 aminokwasów, ulega ekspresji jedynie w mózgu. Wszystkie cztery białka (CAT-1, dwie izoformy CAT-2 i CAT-3) ułatwiają niezależny od jonów Na^+ transport argininy, lizyny i ornityny [19].

Transport argininy jest kompetycyjnie hamowany przez lizynę, ornitynę, kanawainę oraz niektóre inhibitory syntazy tlenu azotu (NOS - nitric oxide synthase) tj. N^G -mometylo-L-argininę i N^G -iminoetylo-L-ornitynę. Oznacza to, że zastosowanie tych inhibitorów może ograniczać dostępność argininy dla innych enzymów, które wykorzystują ten aminokwas jako substrat [78].

Natomiast aminoguanidyna, N^G -nitro-L-arginina i ester metylowy N^G -nitro-L-argininy nie mają wpływu na transport argininy oraz nie hamują aktywności arginazy – enzymu współzawodniczącego z NOS o substrat [78].

Podwyższona zawartość argininy w diecie zwiększa wydajność jej transportu w komórkach nabłonka jelita, co świadczy o możliwościach adaptacyjnych układu przekaźników [19].

Egzogenna arginina indukuje układ y^+ bardzo szybko (około 5 min). Tak krótki czas wyklucza możliwość indukcji ekspresji na poziomie transkrypcyjnym czy translacyjnym, ponieważ ten typ regulacji wymaga dłuższego czasu (od 30 min do kilku godzin). Prawdopodobnie obecność argininy powoduje stymulację transbłonową układu y^+ , której towarzyszy translokacja białek nośnikowych [50].

W badaniach *in vitro* i *in vivo* wykazano, że w różnych typach komórek ekspresji układu y^+ towarzyszy również ekspresja indukowalnej NOS (NOS – inducible nitric oxide synthase), co wskazuje, że transport argininy w tych komórkach wzrasta w celu utrzymania na odpowiednim poziomie syntezy tlenu azotu (NO – nitric oxide). Dowodzi to, że indukowana przez różne czynniki synteza NO ściśle zależy od jednoczesnej indukcji układu y^+ [44].

Komórkowe umiejscowienie przekaźników argininy jest odpowiedzialne za tzw. paradoks argininowy. Polega on na tym, że synteza NO w komórkach śródbłonka naczyń krwiono-

śny jest zależna od stężenia pozakomórkowej L-argininy, mimo że stężenie wewnątrzkomórkowe L-argininy jest duże (1–2 mmola/l) i przewyższa wartość Km śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS – endothelium nitric oxide synthase) [79]. Wykazano, że białko nośnikowe CAT-1, odpowiedzialne za transport argininy, występuje bardzo często na powierzchni błony łącznie z eNOS. Razem tworzą kompleks odpowiedzialny za dostarczanie substratu – L-argininy – dla eNOS. Taki mechanizm bezpośredniego kierowania pozakomórkowej L-argininy do syntezy NO, optymalizuje jego wytwarzanie w komórkach śródbłonka. Jest to również przykład mechanizmu, w którym substrat reguluje aktywność związanego z jego przemianą enzymu [48]. Powyższe zjawisko – syntezy tlenu azotu, zależnej od stężenia pozakomórkowej argininy, mimo wystarczających jej ilości wewnątrz komórek, dotyczy również reakcji katalizowanych przez iNOS [35].

PRZEMIANY METABOLICZNE ARGININY

W komórkach organizmu zachodzą prawie wszystkie przemiany metaboliczne argininy, z tym że w poszczególnych narządach czy tkankach nasilone są określone drogi jej przemian. Na przykład w wątrobie dominuje cykl mocznikowy, natomiast w komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych przeważa synteza tlenu azotu.

Metabolizm argininy jest kontrolowany na etapie syntezy i katabolizmu. Istotną rolę pełnią enzymy, odpowiedzialne za tempo tych przemian w komórkach. Są to syntetaza argininobursztynianowa (ASS – argininosuccinate synthase), dwa izoenzymy arginazy, trzy izoenzymy syntazy tlenu azotu i dekarboksylaza argininowa (ADC – arginine decarboxylase). W ostatnich latach enzymy te zostały uznane za podstawowe czynniki regulacyjne w metabolizmie argininy [3,46].

Zmiany w aktywności tych enzymów oraz funkcjonowanie przekaźników argininy są w ostatnich latach przedmiotem zainteresowania wielu ośrodków naukowych ze względu na ich ważne znaczenie w metabolizmie tego aminokwasu. Podlegają one złożonym interakcjom, których dokładne poznanie pozwoli w przyszłości wyjaśnić mechanizmy, decydujące o przemianach argininy w określone jej metabolity, zarówno w stanach fizjologicznych jak i patologicznych organizmu.

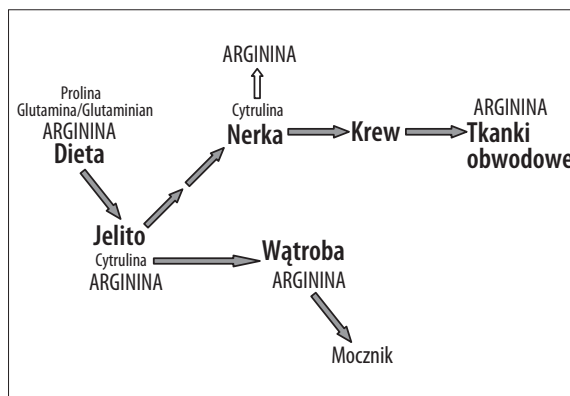
Fizjologiczne funkcje oraz powiązania szlaków syntezy i katabolizmu argininy *in vivo* są złożone i trudne do analizy. Wynika to z kompartmentacji w zakresie ekspresji różnych genów, zarówno w obrębie poszczególnych narządów (np. wątroba, jelito, nerki) jak i poziomów subkomórkowych (cytosol i mitochondria), a także ze zmian w ekspresji tych genów podczas rozwoju i w odpowiedzi na różne czynniki np. dietę, hormony czy cytokiny [45,66,78].

ANABOLIZM

Głównymi narządami, odpowiadającymi za powstawanie L-argininy w organizmie, są wątroba i nerki. Bezpośrednim substratem do syntezy argininy jest cytrulina, która jest syntetyzowana głównie w jelicie cienkim [72] (ryc. 2).

A) Synteza argininy w wątrobie

W wątrobie, w cyklu mocznikowym cytrulina poprzez argininobursztynian z udziałem syntazy N-acetyloglutami-



Ryc. 2. Synteza argininy i jej międzyorganowa wymiana

nianowej i liazy argininobursztynianowej (ASL – argininosuccinate lyase) jest przekształcana do argininy [46]. Duża aktywność arginazy w tym narządzie powoduje szybką hydrolizę argininy do ornityny i mocznika, dlatego nie dochodzi do jej uwalniania do układu krążenia [3].

Synteza argininy w wątrobie zachodzi tylko wtedy, gdy obecne są wszystkie niezbędne intermediaty cyklu mocznikowego, szczególnie ornityna. Enzymy cyklu mocznikowego są zorganizowane w kompleks, w którym produkt każdej reakcji enzymatycznej jest jednocześnie substratem w następnej reakcji cyklu. Taki sposób organizacji i jednocześnie duża aktywność arginazy w hepatocytach sprawia, że towarzyszy temu słaba synteza endogennej argininy uwalnianej do krążenia lub jej brak [30,46].

Ekspresja enzymów wątrobowych cyklu mocznikowego zaczyna się podczas rozwoju płodowego i po narodzinach następuje jej wzrost. W trakcie dalszego rozwoju poziom i aktywność enzymów cyklu mocznikowego w wątrobie jest regulowany przez takie czynniki jak: ilość białka w diecie, katabolizm aminokwasów, zmiany w poziomie glukokortykoidów czy w stosunku glukagon/insulina [46,75]. Regulacja ta może się odbywać na etapie transkrypcji genów, kodujących te enzymy (działanie długotrwałe) oraz poprzez zmiany w ich aktywności (działanie szybkie). Te ostatnie dotyczą przede wszystkim CPS, która jest regulowana poprzez zmiany w stężeniu mitochondrialnego NAG [9]. Jest to najważniejszy etap cyklu, podlegający bezpośredniej kontroli przez argininę, będącą allosterycznym aktywatorem NAGS w procesie powstawania NAG [21]. Mechanizmy odpowiedzialne za regulację cyklu mocznikowego są obecnie już dość dobrze poznane i opisane w literaturze naukowej [46], dlatego nie będą one szerzej opisywane w tej pracy.

B) Synteza argininy w jelicie cienkim

Badania ostatnich lat wykazały, że decydującą rolę w syntezie endogennej argininy odgrywają komórki nabłonkowe jelita cienkiego (enterocyty), w których odbywa się synteza prekursora syntezy argininy – cytruliny [15,45,72].

Substratami do syntezy argininy w jelicie cienkim są pochodzące z diety glutamina i glutaminian oraz glutamina obecna w osoczu [59,67]. Oprócz tych związków waż-

nym prekursorem jelitowej syntezy cytruliny i argininy jest prolina. Jej główne źródło w jelitach stanowi dieta, a ostatecznym produktem jej metabolizmu jest cytrulina (ryc. 2). Jest to możliwe, ponieważ oksydaza prolino-wa (PO – proline oxidase) u ssaków występuje nie tylko w wątrobie, nerkach i mózgu, ale również w jelicie cienkim (enterocyty) [37].

Podstawowym związkem w przemianach glutaminy/glutaminianu do cytruliny jest pirolino-5-karboksylan (P5C – pyrroline-5-carboxylate), powstający z udziałem syntazy pirolino-5-karboksylanu (P5CS – pyrroline-5-carboxylate synthase), enzymu umiejscowionego prawie wyłącznie w błonie śluzowej jelita [4,59]. Wykazano, że ponad 25% jelitowej glutaminy zostaje przekształcana do cytruliny, uwalnianej do puli krążących z krwią aminokwasów [17].

Bezpośrednio po narodzinach jelito cienkie jest głównym miejscem syntezy argininy. Jest to możliwe dzięki dużej aktywności ASS i ASL, a także braku lub małej aktywności arginazy w jelicie [76]. Stopniowo, w miarę rozwoju organizmu, wzrasta jelitowa aktywność arginazy i jelito cienkie staje się głównym miejscem syntezy cytruliny, której znaczna ilość, dzięki małej jelitowej aktywności ASS, jest uwalniana do układu krążenia. To przejście jest kompensowane przez stopniowy wzrost zdolności nerek do syntezy argininy z cytruliny [17,32,72].

C) Synteza argininy w nerkach

Okolo 80% powstającej w jelicie cienkim (głównie w jelicie czczym) cytruliny trafia do nerek, gdzie jest przekształcana do argininy, która jest następnie uwalniana do krwi i dostarczana do tkanek obwodowych (ryc. 2). Pozostała ilość jest wychwytywana przez wątrobę [13]. U ludzi blisko 60% endogennej argininy jest syntetyzowana właśnie w nerkach [45]. Pobierana z krwi cytrulina, z udziałem ASS i ASL, umiejscowionych w kanalikach proksymalnych, jest przekształcana stechiometrycznie w argininę uwalnianą następnie do krwi obwodowej (ryc. 2) [71,72].

Nerka jest głównym organem odpowiedzialnym za stężenie argininy w osoczu krwi. Wykazano ścisłą korelację pomiędzy ilością pobieranej przez nerkę cytruliny, a synteza w niej argininy. Synteza argininy w nerkach jest limitowana przez ilość cytruliny, wytwarzanej w jelicie cienkim [4,83]. Zdolność nerek do syntezy argininy wydaje się kilkakrotnie wyższa niż zdolność jelita cienkiego do wytwarzania cytruliny. Aktywność i poziom mRNA enzymów uczestniczących w procesie przekształcania cytruliny do argininy (ASS i ASL) w nerkach wyraźnie wzrasta przy diecie wysokobiałkowej. Podobne zjawisko obserwowano w głodzie, co wskazuje na odpowiedź adaptacyjną organizmu, w celu zapewnienia odpowiedniego poziomu argininy w osoczu przy braku białek (egzogennej argininy) z diety [71].

Zdolność nerek do syntezy argininy pojawia się w późnym okresie płodowym i wzrasta po narodzinach. Wzrost ten jest związany z opisanymi wcześniej zmianami rozwojowymi w zdolności jelita do syntezy argininy [72]. W nerkach, podobnie jak w jelicie występuje arginaza, ale ekspresja tego enzymu i enzymów biorących udział w syntezie argininy jest zróżnicowana w poszczególnych częściach

nefronu. W ten sposób enzymy przeciwnych ścieżek metabolicznych (syntezy i katabolizmu argininy) różnią się miejscem działania [45,78].

D) Synteza argininy w komórkach syntetyzujących tlenek azotu (NO)

Najważniejszym źródłem argininy do syntezy NO w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych jest pozakomórkowa arginina, obecna w osoczu. Natomiast wewnątrzkomórkowy cykl przemian cytrulina/NO, nazywany również cyklem arginina/cytrulina oraz degradacja białek pełnią w tej przemianie tylko rolę wspomagającą [78,81]. Przemiany te są możliwe dzięki współdziałaniu obecnych we wszystkich typach komórek enzymów ASS i ASL [27].

Arginina w naczyniach krwionośnych poza udziałem w syntezie NO, jako aminokwas zasadowy bierze udział w depolaryzacji błon komórek śródbłonna, reguluje wewnątrzkomórkowe pH oraz pH krwi. W stężeniu 0,5–1 mmol/l, arginina zmiata anionorodniki nadtlenkowe, hamuje peroksydację lipidów inicjowaną przez jony metali przejściowych (zwłaszcza miedź), co wskazuje na jej antyoksydacyjne działanie [22,80].

Umiejscowienie enzymów uczestniczących w syntezie argininy

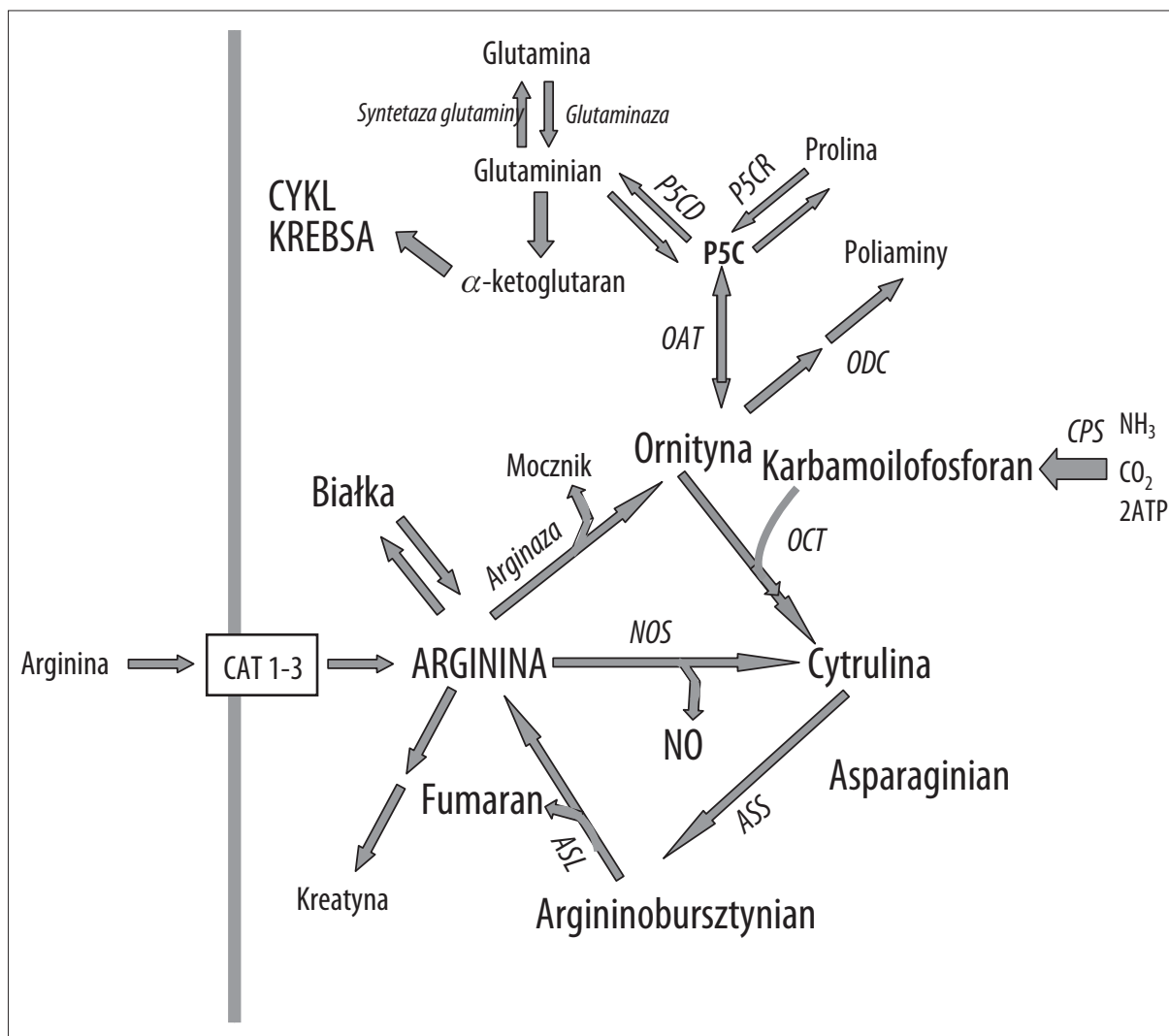
Poszczególne enzymy zaangażowane w syntezę endogennej argininy są obecne w różnych typach komórek organizmu. Glutaminaza fosforanozależna, aminotransferaza ornitynowa (OAT – ornithine aminotransferase), ASS, ASL i aminotransferaza asparaginianowa (ASPART – aspartate aminotransferase) są szeroko rozpowszechnione w tkankach ssaków [66,67], CPS, karbamoilotransferaza ornitynowa (OCT – ornithine carbamoyltransferase) i NAGS są charakterystyczne tylko dla wątroby i błony śluzowej jelit [72]. Oksydaza prolinowa jest obecna głównie w jelicie cienkim, wątrobie i nerkach, ale już P5CS tylko w błonie śluzowej jelita, w innych tkankach występuje w ilościach śladowych [4,76].

Reakcje syntezy argininy przebiegają w mitochondrium (reakcje katalizowane P5CS, OAT, OCT, NAGS) oraz w cytosolu (reakcje katalizowane przez ASS, ASL). Różny poziom ekspresji enzymów uczestniczących w syntezie argininy wynika najprawdopodobniej z wysokiej kompartmentacji ich metabolicznych funkcji w poszczególnych narządach organizmu [45].

Tylko w komórkach jelita cienkiego noworodków człowieka i wielu ssaków odbywa się pełna synteza endogennej argininy. U osobników dorosłych następuje rozdział etapów syntezy argininy pomiędzy jelito i nerki. Organy te są odpowiedzialne za powstawanie poszczególnych intermediatów potrzebnych do jej syntezy (oś jelitowo-nerkowa) [45,71,83].

KATABOLIZM

O ile synteza i transport argininy są w miarę dobrze poznane, to katabolizm argininy budzi wielkie zainteresowanie, szczególnie końcowe jego produkty, które pełnią funkcję komórkowych cząsteczek sygnalizacyjnych np. NO czy glutaminian



Ryc. 3. Metabolizm argininy. Enzymy biorące udział w przemianach: ASL – liaza argininobursztynianowa (EC 4.3.2.1); ASS – syntetaza argininobursztynianowa (EC 6.3.4.5); NOS – syntetaza tlenu azotu (EC 1.14.13.39); OCT – karbamoilotransferaza ornitynowa (EC 2.1.3.3); CPS – syntetaza karbamoilofosforanowa (EC 6.3.4.16); ODC – dekarboksylaza ornitynowa (EC 4.1.1.17); OAT – aminotransferaza ornitynowa (EC 2.6.1.13); P5CR – reduktaza pirolino-karboksylanu (EC 1.5.1.2); P5CD – dehydrogenaza pirolino-5-karboksylanu (EC 1.5.1.12), arginaza (EC 3.5.3.1), syntetaza glutaminy (EC 6.3.1.2), glutaminaza (EC 3.5.1.2). Inne skróty: CAT 1-3 białka przenośnikowe CAT (CAT 1, CAT 2, CAT 3); NO – tlenek azotu

jako prekursor GABA [67]. Poliaminy, którym przypisuje się funkcje regulacyjne w proliferacji i wzroście komórek, mogą regulować procesy komórkowe np. funkcjonowanie kanałów jonowych [43,55]. Wykazanie, że arginina jest prekursorem w syntezie komórkowych czynników sygnalizacyjnych, zmienia dotychczasową wiedzę na temat jej funkcji w organizmie i rozszerza nasze spojrzenia na argininę nie tylko jako prekursora syntezy białek, mocznika i kreatyny. W świetle tych danych arginina spełnia różne, ale bardzo istotne funkcje w fizjologii i metabolizmie [5,80] (ryc. 3).

Katabolizm L-argininy obejmuje dwie główne przemiany. W pierwszej arginina jest metabolizowana przez arginazę do ornityny oraz mocznika i odbywa się to głównie w wątrobie i jelicie. Druga przemiana zachodzi w pozostałych komórkach organizmu, jest związana z powstawaniem tlenu azotu i cytruliny w reakcji katalizowanej przez syntazę tlenu azotu [73].

Katabolizm L-argininy na poziomie komórkowym charakteryzuje się wysoką kompartmentacją, co wynika z tego, że aminokwas ten jest katabolizowany w wielu złożonych szlakach [66,78]. Wiele z nich funkcjonuje w obrębie tej samej komórki, gdzie główne enzymy tych przemian, tj. iNOS, arginaza czy ODC ulegają jednoczesnej ekspresji. Ma to odzwierciedlenie w złożonych interakcjach, w których produkt jednej reakcji enzymatycznej może hamować aktywność innego enzymu np. hamowanie arginazy przez N^G-hydroksy-L-argininę [8,68].

Komórkowa dystrybucja ekspresji enzymów jest bardzo zróżnicowana, w przypadku iNOS jej ekspresja zachodzi w każdej komórce, która jest ekspozycja na odpowiednie czynniki stymulujące [39]. Natomiast ekspresja amidnotransferazy arginina: glicyna (AGAT – arginine: glycine amidnotransferase) jest dużo bardziej restrykcyjna i zdarza się głównie w nerkach, trzustce i w mniejszym

stopniu w wątrobie. Obecność arginazy II i OAT w wielu typach komórek wskazuje na ich zdolność do syntezy proliny i glutamianu z argininy [37,67].

OAT i ODC są umiejscowione w różnych rejonach subkomórkowych (mitochondria i cytosol odpowiednio). Wskazuje to, że ornityna wytwarzana przez mitochondrialną lub cytosolową arginazę prawdopodobnie ma różne metaboliczne przeznaczenie [3,5,78].

Rola arginazy

Szczególnym enzymem w katabolizmie argininy jest arginaza, katalizująca hydrolizę L-argininy do L-ornityny i mocznika (ryc. 3). Występuje we wszystkich organizmach żywych i jest jednym z enzymów cyklu mocznikowego. W przeciwieństwie do pozostałych enzymów tego cyklu arginaza występuje również w tkankach pozawątrobowych, tj. mózgu, nerkach, sercu, jelicie cienkim, płucach, gruczole sutkowym, ale jej aktywność jest znacznie mniejsza niż w wątrobie [53]. W przypadku nerek i mięśni aktywność arginazy stanowi tylko 1% aktywności w wątrobie [21].

Arginaza jest trimerem o masie cząsteczkowej 107–118 kDa, zbudowanym z podjednostek o masie 20–40 kDa i wiążących 2 jony Mn^{2+} , które są jej allosterycznymi aktywatorami. Aktywność arginazy zależy nie tylko od obecności Mn^{2+} , ale również od pH. Optimum pH arginazy waha się w zakresie 9,5–10,5. Jej kompetycyjnymi inhibitorami są ornityna, lizyna i aminokwasy o łańcuchach rozgałęzionych [30].

Na podstawie obecnego stanu wiedzy wiadomo, że w komórkach ssaków występują kodowane przez różne geny 2 izoformy arginazy. Katalizują one tę samą reakcję, ale różnią się pod względem lokalizacji komórkowej, dystrybucji tkankowej, regulacji ekspresji i reaktywności immunologicznej. Arginaza I występuje w cytosolu i jest charakterystyczna dla komórek wątroby, gdzie uczestniczy w cyklu mocznikowym. W porównaniu z innymi tkankami wątroba wykazuje najwyższy poziom ekspresji arginazy I [10,31,37,52].

Arginaza II, obecna głównie w mitochondrialnej matrix, występuje w nerkach, mózgu, jelicie cienkim, gruczole sutkowym i makrofagach. W wątrobie nie występuje wcale, albo jest obecna w małych ilościach [10,14].

W niektórych typach komórek mogą występować jednocześnie obie izoformy arginazy (nerka, trzustka, jelito), które mogą wykazywać różną subkomórkową lokalizację. Wiedza o lokalizacji izoform pozwala przewidzieć jakie mechanizmy będą decydowały o losach argininy w komórce. Zróznicowana ekspresja izoenzymów arginazy w komórce jest odpowiedzialna albo za preferencyjne kierowanie ornityny do syntezy proliny czy glutamianu przez OAT lub jej wykorzystanie do syntezy poliamin katalizowanej przez ODC [3,5,10,38].

Wysoki poziom arginazy I w wątrobie razem z odpowiednią dostępnością substratów i metabolitów cyklu mocznikowego służy do zapewnienia dużej wydajności procesu usuwania toksycznego amoniaku z organizmu. Z powodu występowania w postaci dwóch izoform arginaza jest wyjątkowym enzymem cyklu mocznikowego. Dzięki temu

dziedziczne defekty arginazy wątrobowej I są częściowo kompensowane przez podwyższoną ekspresję arginazy II w nerkach, a objawy kliniczne niedoboru arginazy I są dużo łagodniejsze [10,30].

Dość długo istniało dużo kontrowersyjnych poglądów, co do obecności enzymów cyklu mocznikowego w jelicie cienkim i możliwości jego prawidłowego funkcjonowania w tym narządzie. Wyniki badań Wu ostatecznie potwierdziły i wykazały, że nie tylko wątroba jest miejscem syntezy mocznika z amoniaku [75]. Pewna ilość mocznika może być wytwarzana również w jelicie cienkim, mimo że jest ono miejscem syntezy cytruliny. Ureogeneza w jelicie cienkim może stanowić pierwszą linię obrony przed toksycznym amoniakiem, który pochodzi z katabolizmu jelitowej glutaminy i jest wytwarzany przez jelitową florę bakteryjną [75].

Aktywność arginazy jest regulowana przez dostępność argininy jako substratu. Należy jednak pamiętać, że arginina jest substratem nie tylko arginazy, ale również innych enzymów np. NOS czy ADC. Razem z syntazą tlenu azotu arginaza konkuruje o wspólny substrat – argininę [8,25]. Współzawodnictwo to zależy od tkanki i działających bodźców. Duża aktywność arginazy w komórkach ogranicza dostępność argininy do syntezy NO np. w ranach czy makrofagach [31]. Wykazano, że dla arginaz ssaków K_m dla argininy jest w zakresie 2–20 mM, natomiast w przypadku różnych izoform NOS w zakresie 2–20 μM . Wzrost aktywności NOS oraz poziomu azotynów i azotanów w warunkach *in vitro* wiąże się z zahamowaniem aktywności arginazy. N^G -hydroksy-L-arginina, metabolit powstający w syntezie NO, jest silnym inhibitorem arginazy w wątrobie i makrofagach. Wykazano że iNOS ulegająca ekspresji w makrofagach i komórkach śródbłonna, może wytwarzać wystarczającą ilość N^G -hydroksy-L-argininy do zahamowania aktywności arginazy [8, 68].

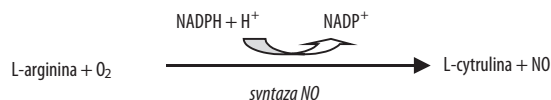
Znanych jest wiele dowodów świadczących o współzawodnictwie arginazy i iNOS o argininę zarówno w układach *in vitro* jak i *in vivo*. Zużywanie przez arginazę i NOS wspólnego substratu decyduje o pewnych zależnościach pomiędzy tymi enzymami. Ulegająca ekspresji w makrofagach i komórkach śródbłonna iNOS wytwarza N^G -hydroksy-L-argininę, która jest inhibitorem arginazy [44].

Szczególne zainteresowanie arginazami wzrasta ze względu na ich prawdopodobny udział w regulacji wykorzystania argininy do syntezy NO, poliamin, agmatyny, proliny i glutamianu [3,31,37].

Rola syntazy tlenu azotu

Wiele typów komórek naszego organizmu wykorzystuje argininę do syntezy cząsteczki NO, która spełnia wiele istotnych funkcji w podstawowych procesach życiowych organizmu człowieka. NO znany wcześniej, jako czynnik rozszerzający naczyń (EDRF – endothelial derived relaxing factor), obniża napięcie naczyń krwionośnych, hamuje przyleganie, aktywację i agregację płytek krwi, uczestniczy w przewodzeniu nerwowym (jest neuroprzekaznikiem w mózgu i obwodowym układzie autonomicznym), odpowiedzi immunologicznej i innych procesach [29,63,69,79].

Tlenek azotu powstaje w wyniku metabolizmu argininy. Reakcja ta jest katalizowana przez syntazę tlenku azotu [8].



Mechanizm reakcji przekształcenia argininy w NO polega na utlenieniu z udziałem tlenu cząsteczkowego (O_2) grupy iminowej reszty guanidynowej L-argininy. Powstaje L-cytrulina i NO [1]. Stabilnym intermedyatem powstającym w tej reakcji jest N^G -hydroksy-L-arginina, która w wątrobie i makrofagach jest inhibitorem arginazy [8]. Dostępność wewnątrzkomórkowej argininy w tym procesie limituje syntezę NO [25,44].

W ciągu kilku ostatnich lat poznano i opisano enzymy katalizujące reakcję, w której powstaje tlenek azotu. Rodzina enzymów NOS jest najlepiej poznana, obok arginazy grupą enzymów uczestniczących w metabolizmie argininy. Intensywne badania pozwoliły ustalić ich strukturę i funkcje. Obecność ich wykazano w wielu tkankach organizmu. Są one dimerami o masie cząsteczkowej 125–155 kDa. Ich działanie wymaga obecności NADPH i Ca^{2+} oraz tetrahydrobiopteryny. Arginina jest nie tylko substratem NOS, ale spełnia jeszcze dodatkową funkcję, bierze udział w powstawaniu dimerów NOS [1].

Znane są trzy typy izoenzymów NOS, kodowane przez różne geny: indukowalna iNOS (typ II NOS) neuronalna NOS (nNOS, typ I NOS) i śródbłonkowa eNOS (typ III NOS) [1]. nNOS i eNOS są konstytutywnie wytwarzane tylko w niektórych komórkach organizmu (neurony, płytki, komórki śródbłonka naczyń, miocyty) [65,73]. Natomiast iNOS jest enzymem indukowanym w większości komórek. Jej ekspresja następuje w wyniku indukcji pod wpływem działania endotoksyn bakteryjnych (lipopolisacharydy-LPS) czy prozapalnych cytokin, szczególnie interferonu- γ (IFN- γ) [39,47].

W świetle badań *in vitro* i *in vivo* komórkowa synteza NO jest determinowana na poziomie ekspresji NOS oraz przez regulację katalitycznej wydajności NOS przez Ca^{2+} /kalmodulinę czy dostępność niezbędnych kofaktorów np. tetrahydrobiopteryny [8,81].

Na podstawie obecnego stanu wiedzy na temat wewnątrzkomórkowych i pozakomórkowych mechanizmów metabolizmu argininy związanych z syntezą NO wynika, że proces ten jest regulowany w różny sposób i jest kontrolowany przez dostępność argininy i kofaktorów [25,69].

Arginina osocza stanowi tylko 54% argininy wykorzystanej w syntezie NO, pozostała część prawdopodobnie pochodzi z endogennych źródeł, tj. degradacji białek i endogennej syntezy argininy w miejscach syntezy NO [78].

BIOLOGICZNE FUNKCJE METABOLITÓW ARGININY

Poliaminy

Prekursorem w syntezie poliamin (putrescyny, sperminy i spermidyny), związków niezbędnych do proliferacji, róż-

nicowania i prawidłowego funkcjonowania komórek, jest ornityna. Poliaminy jako polikationowe związki oddziałują z DNA, RNA, białkami i innymi polianionami i w ten sposób mogą stymulować w komórkach biosyntezę DNA, RNA, białek [5,28,55]. Związkom tym, podobnie jak NO przypisuje się funkcje immunoregulacyjne, a ich bezpośrednimi prekursorom (argininie i ornitynie) współzależne przemiany [17].

Do ich syntezy jest potrzebna arginina, która dzięki arginazie zostaje przekształcona do ich bezpośredniego prekursora – ornityny (ryc. 3). Ta z kolei jest substratem do syntezy putrescyny, która jest następnie przekształcana do sperminy i spermidyny [23,43].

Dostępność argininy do syntezy poliamin w komórkach jest ściśle związana z działaniem arginazy i ODC. Bardzo często ekspresja obu enzymów zachodzi jednocześnie [10,31]. W badaniach *in vitro* wykazano, że komórki, które wykazują małą aktywność arginazy w medium pozbawionym ornityny, nie są w stanie proliferować. Wydaje się, że duża aktywność arginazy jest odpowiedzialna za syntezę wystarczającej ilości ornityny do syntezy poliamin w komórkach. Wykazano korelacje pomiędzy aktywnością arginazy a syntezą poliamin. Wzrostowi aktywności arginazy w nerkach czy jelicie cienkim towarzyszyła również synteza poliamin w tych narządach [3,37].

Kreatyna

Proces powstawania kreatyny odbywa się w nerce, wątrobie i mięśniach. Arginina jest prekursorem w biosyntezie kreatyny, gdzie jest dawcą grupy guanidynowej. Proces syntezy kreatyny z argininy jest bardzo dobrze poznany. Powstawanie kreatyny jest zapoczątkowywane przez enzym mitochondrialny – amidynotransferazę argininoglicynową (AGAT) – który przenosi grupę guanidynową z argininy na glicynę z wytworzeniem guanidynooctanu (GA – guanidinoacetate) i ornityny. Enzym ten jest obecny przede wszystkim w kanalikach nerkowych i trzustce oraz w dużo mniejszych ilościach w wątrobie i innych narządach [23,51]. Nerki są głównym miejscem syntezy GA, chociaż są dane, że trzustka może również dostarczać pewne ilości tego związku do wątroby. Wątroba, ze względu na niski poziom wychwytu argininy z krążenia i szybką hydrolizę argininy do mocznika nie odgrywa znaczącej roli w dostarczaniu GA do syntezy kreatyny [82].

W wątrobie GA jest metylowany przez N-metylotransferazę guanidynooctanową (GMAT – guanidinoacetate methyltransferase) i powstaje kreatyna, która z krwią trafia do mięśni szkieletowych, gdzie jest fosforylowana do fosfo-kreatyny. W reakcji nieenzymatycznej dehydratacji może być przekształcona do kreatyniny, ulegającej filtracji w nerkach. Związek ten jest powszechnie stosowanym klinicznym markerem funkcjonowania nerek [42].

GMAT jest cytosolowym enzymem występującym poza wątrobą, w trzustce i w znacznie mniejszych ilościach w nerkach. Brak tego enzymu u ludzi powoduje ostre niedobory kreatyny i nieprawidłowości rozwojowe w mięśniach i mózgu już podczas wczesnego dzieciństwa [82].

Synteza kreatyny w organizmie człowieka wiąże się z dość dużym zużyciem całkowitej ilości argininy w or-

ganizmie. Na przykład w organizmie dorosłego mężczyzny o masie 70 kg dziennie powstaje około 1,5 g kreatyniny. Utrzymanie homeostazy kreatyny w organizmie wymaga do jej syntezy prawie 2,3 g (13,3 mmol) argininy/dzień, co stanowi około 10% całkowitej ilości argininy w osoczu krwi [78].

Regulacja syntezy kreatyny zachodzi głównie na poziomie nerkowej AGAT. Jej aktywność w nerkach jest pierwotnie regulowana przez kreatynę i hormon wzrostu [82].

Agmatyna

Z L-argininy w reakcji dekarboksylacji katalizowanej przez ADC powstaje CO₂ i agmatyna [4-(aminobutyl)-guanina], znana jako ligand receptora α₂-adrenergicznego w ośrodkowym układzie nerwowym [60,61]. ADC występuje w mózgu, wątrobie, nerkach, nadnerczach, jelicie cienkim oraz makrofagach a na poziomie komórkowym jest umiejscowiona głównie we frakcji mitochondrialnej [5]. Mimo że biologiczne funkcje agmatyny nie są do końca poznane, to istnieje wiele badań wskazujących, że ten metabolit argininy jako ligand adrenergicznych i imidazolowych receptorów pełni ważne funkcje w sygnalizacji komórkowej. Agmatyna może hamować syntezę tlenu azotu czy poliamin [5,57].

W badaniach *in vivo* wykazano, że agmatyna indukuje syntezę antyzymu, który hamuje aktywność ODC. Prowadzi to do obniżenia stężenia poliamin i zahamowania proliferacji komórek [10,64]. Agmatyna, jeżeli jej stężenie jest wystarczająco duże, jest kompetycyjnym inhibitorem izoform NOS, co sugeruje, że może ona pełnić funkcje endogennego regulatora syntezy NO [5]. Ponieważ na zasadzie sprzężenia zwrotnego hamuje ona również ODC, stężenie wystarczające do inhibicji syntezy NO czy poliamin w warunkach *in vivo* może być trudne do osiągnięcia [5,78]. Na obecnym etapie badań w dalszym ciągu brak jest przekonujących danych, że endogenna agmatyna ma tak znaczący wpływ na syntezę NO i poliamin z argininy.

Glutaminian i glutamina

Glutaminian może powstawać w organizmie z argininy, ornityny czy proliny. Związkiem pośrednim jest P5C, jego redukcja prowadzi ostatecznie do powstania glutaminianu, z którego z udziałem syntetazy glutaminowej może powstać jego amid – glutamina (ryc. 3). Związek ten uczestniczy w wielu przemianach biochemicznych. Jest substratem do syntezy białek, neuroprzekaznika – GABA, glutationu, czy N-acetyloglutaminianu [59]. Przekształcenie glutaminianu do α-ketoglutaranu – intermediatu cyklu Krebsa wskazuje na jego udział w syntezie glukozy czy aminokwasów [9,67].

Z kolei glutamina jest niezbędnym prekursorem do syntezy białka i innych aminokwasów między innymi glutaminianu, argininy, ornityny, cytruliny, proliny czy aminocukrów i ich pochodnych, nukleotydów, glukozy (w wątrobie i nerce) oraz uczestniczy w przemianach pośrednich glutaminianu. Jej przemiany są ważnym źródłem energii dla komórek szybko dzielących się (enterocytów, limfocytów i erytrocytów) [18,62]. W procesie amoniogenezy w nerce glutamina odgrywa główną rolę w utrzymaniu równowagi kwasowo-zasadowej. W tkance mózgowej bierze

udział w detoksykacji amoniaku. W reakcji glutaminianu i NH₄⁺ katalizowanej przez syntetazę glutaminową powstaje wiązanie amidowe glutaminy. Łącznie z glutaminianem uczestniczy ona w międzynerzadowym transporcie azotu pomiędzy mięśniami szkieletowymi, wątrobą, nerką jelicem cienkim czy limfoidalnymi organami [24,62].

Prolina

Większość ornityny, która powstaje z argininy jest przekształcana z udziałem OAT do γ-semialdehydu L-glutaminianu, który spontanicznie cyklizuje z utratą wody i powstaje P5C, a następnie z udziałem reduktazy pirolino-5-karboksylationu (P5CR – pyrroline-5-carboxylate reductase) i NAD(P)H + H⁺ redukuje się do proliny lub w reakcji katalizowanej przez dehydrogenazę pirolino-5-karboksylationu (P5CD – pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase) i NAD(P)H+ H⁺ powstaje glutaminian (ryc. 3) [23,59].

Enzymy zaangażowane w tych przemianach OAT, P5CR i P5CD są obecne w większości tkanek organizmu i wykazują zdolność do syntezy zarówno proliny jak i glutaminianu [67]. P5C w tych przemianach jest bezpośrednim intermediatem do syntezy proliny lub glutaminianu w różnych typach komórek organizmu. Najwięcej danych opublikowanych dotyczy jelita cienkiego i gruczołów sutkowych [66].

W jelicie cienkim głównym produktem metabolizmu pozakomórkowej argininy jest prolina a nie cytrulina, mimo dużej aktywności OCT w tym organie. Jest to możliwe, ponieważ enterocyty wykazują dużą aktywność OAT przy jednocześnie małej aktywności CPSI. W mitochondriach ornityna jest preferencyjnie metabolizowana przez OAT do P5C. Ponieważ enterocyty wykazują małą aktywność P5CD (enzym mitochondrialny), ale dużą aktywność P5CR (enzym cytosolowy) to P5C wytwarzany przez OAT nie jest przekształcany w mitochondriach do glutaminianu, ale przechodzi do cytosolu, gdzie ulega przekształceniu do proliny [4]. W ten sposób pochodząca z diety czy krążenia ornityna nie ma większego znaczenia jako prekursor jelitowej syntezy cytruliny i nie przyczynia się znacząco do utrzymania homeostazy argininowej u ludzi [15].

W stanach zapalnych ran, w wydzielinach zwiększa się ilość argininy i wzrasta aktywność arginazy. Towarzyszy temu nasilony proces syntezy ornityny metabolizowanej następnie do proliny, która po hydroksylacji jest wykorzystywana do syntezy kolagenu [54]. Również duża aktywność arginazy w makrofagach obecnych w miejscu uszkodzeń tkanek wskazuje na jej rolę w gojeniu ran. [3]. Arginina jest nie tylko źródłem ornityny do syntezy proliny, niezbędnej do prawidłowej syntezy kolagenu, ale także źródłem NO, powstającego w tych komórkach w odpowiedzi na prozapalne cytokiny i endotoksyny [20]. Z kolei NO reagując z anionorodnikiem nadadtlenkowym (O₂⁻) tworzy toksyczny nadtlenoazotyn (OONO⁻) [16,63].

Synteza proliny z argininy w jelitach zależy od fazy rozwojowej i stanu odżywienia. W enterocytach noworodków nie wykazano argininozależnej syntezy proliny, ale zachodzi ona pomiędzy 21 a 29 dniem po odstawieniu noworodków od piersi, co jest związane ze wzrostem aktywności arginazy w enterocytach [37].

W okresie poresorpcyjnym prolina jest uwalniana do układu krążenia z jelita cienkiego. Prekursorem do jej syntezy w jelicie cienkim jest prawdopodobnie pochodząca z krążenia glutamina [67].

W czasie laktacji w mleku ssaków wzrasta stężenie proliny. Jest to związane z syntezą tego aminokwasu z argininy, która dociera z krwią do gruczołów mlecznych. Zaobserwowano, że wychwyty ornityny i cytruliny (potencjalnych prekursorów do syntezy proliny) przez gruczoły mleczne podczas laktacji jest zdecydowanie mniejszy w porównaniu z wychwytem argininy. Wykazano, że podczas laktacji w gruczołach mlecznych występują wszystkie niezbędne enzymy (arginaza, OAT i P5CR) do syntezy proliny z argininy. Ponieważ w gruczołach mlecznych brak jest P5CS prolina nie może być syntetyzowana z glutaminianu [58, 78]. Ważną rolę w syntezie proliny w gruczole mlecznym spełnia arginaza, zwłaszcza izoforma II oraz OAT. Oba enzymy umiejscowione w mitochondriach nasilają przekształcanie powstającej z argininy ornityny w P5C, który następnie w cytosolu jest przekształcany z udziałem P5CR do proliny. Ponieważ w gruczołach mlecznych nie występuje PO konsekwencją czego jest duża zawartość proliny i stosunkowo mała zawartość argininy w białkach obecnych w mleku [58,34].

Metyloargininy

W procesie modyfikacji potranslacyjnych L-arginina występująca w syntetyzowanych endogennie białkach jest metylowana przez N-metylotransferazy do N^G-monometylo-L-argininy (NMMA), N^GN^G-dimetylo-L-argininy (asymetryczna dimetyloarginina – ADMA) i NGNG-dimetylo-L-argininy (symetryczna dimetyloarginina – SDMA). Reakcje katalizują metylotransferazy. Dawcą grupy metylowej przyłączanej do azotu reszty guanidynowej w tej reakcji jest S-adenozynometionina [41].

Wewnątrzkomórkowa degradacja białek prowadzi do powstawania wolnych metyloarginin (NMMA, ADMA, i SDMA), które są ostatecznie metabolizowane przez dimetyloaminohydrolazy do wolnej cytruliny i metyloamin. Enzymy te występują powszechnie w komórkach organizmu (serca, mózgu, płuc, wątroby, mięśniach szkieletowych, nerek) i katalizują reakcje hydrolizy wiązań C-N w miejscu metylacji reszty guanidyny NMMA i ADMA [36]. Ich małą aktywność wykazano w osoczu osób zdrowych, natomiast u osób z chorobami układu krążenia (zaburzenia funkcjonowania nerek, hipercholesterolemii, miażdżycy, nadciśnieniu) ich aktywność znacząco wzrasta. Badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że NMMA i ADMA uczestniczą w regulacji syntezy NO. Pełnią one funkcję kompetycyjnych inhibitorów wszystkich izoform NOS [6,12,70]. Natomiast SDMA hamuje transport argininy do komórek [13]. Istnieją również sugestie, że metylacja argininy i po-

wstawanie reszt dimetyloargininowych w białkach spełnia ważną rolę w procesach transkrypcji, w międzycząsteczkowych interakcjach białek, sortowaniu białek i sygnalizacji komórkowej [41].

ZASTOSOWANIE ARGININY JAKO LEKU

Na świecie, również w Polsce, prowadzone są intensywne badania nad zastosowaniem argininy jako leku wspomagającego w chorobach wątroby, układu sercowo-naczyniowego, chorobach cywilizacyjnych. Obecnie istnieje już bardzo dużo danych naukowych o klinicznym zastosowaniu L-argininy w leczeniu chorób układu krążenia i wątroby. Bardzo dobre wyniki uzyskiwano stosując L-argininę w leczeniu nadciśnienia tętniczego, patologii ciąży związanych z nadciśnieniem krwi, chorobie niedokrwiennej, niewydolności krążenia, miażdżycy, cukrzycy, jaskrze, udarach mózgowych i zakrzepach naczyniowych, niewydolności nerek, zaburzeń czynności wątroby związanych z nieprawidłowym przebiegiem cyklu mocznikowego, zatruc amoniakiem [79,80]. Dobre wyniki uzyskiwano stosując argininę w leczeniu wspomagającym miażdżycy tętnic kończyn dolnych [2,6,11,33].

W Polsce L-arginina znalazła kliniczne zastosowanie jako lek ochraniający wątrobę i wspomagający jej funkcjonowanie. Ponieważ arginina jest substancją naturalnie występującą w pożywieniu i w naszym organizmie, wydaje się, że stosowanie jej jest bezpieczne na tyle, że została dopuszczona do obrotu bez recepty jako preparat farmakologiczny – ARGININA. Mechanizm jego działania polega na tym, że może stymulować usuwanie toksycznego amoniaku z wątroby [33].

Możliwość zastosowania L-argininy stwarza dużą szansę na wykorzystanie jej w leczeniu różnych schorzeń. Stosowana w dużych dawkach nie ma działań niepożądanych. Czasami mogą się pojawiać przy stosowaniu dużych dawek argininy zaburzenia żołądkowo-jelitowe. Badania koncentrujące się nad rolą argininy w sercowo-naczyniowych zaburzeniach wskazują, że suplementacja argininą może stanowić nową potencjalną strategię w prewencji chorób sercowo-naczyniowych [6,23,56].

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach dokonał się znaczący postęp w zakresie zrozumienia metabolizmu argininy. Dotyczy to wiedzy na temat roli argininy na wszystkich poziomach (organizm, organy, tkanki, komórki), w zdrowiu i chorobie, podczas różnych etapów rozwoju osobniczego. Wyjaśniony został udział argininy pochodzącej z diety i zsyntetyzowanej endogennie w przemianach w komórkach poszczególnych organach.

PIŚMIENICTWO

- [1] Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G.: Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.*, 2001; 357: 593–615
- [2] Appleton J.: Arginine: Clinical potential of a semi-essential amino. *Altern. Med. Rev.*, 2002; 7: 512–522
- [3] Bansal V., Ochoa J.B.: Arginine availability, arginase and immune response. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 2003; 6: 223–228
- [4] Baumgartner M.R., Hu C.A.A., Almashanu S., Steel G., Obie C., Aral B., i wsp.: Hyperammonemia with reduced ornithine, citrulline, arginine and proline: a new inborn error caused by a mutation in the gene encoding δ -pyrroline-5-carboxylate synthase. *Hum. Mol. Genet.*, 2000; 9: 2853–2858
- [5] Blantz R.C., Satriano J., Gabbai F., Kelly C.: Biological effects of arginine metabolites. *Acta Physiol. Scand.*, 2000; 168: 21–25

- [6] Boger R.H., Bode-Boger S.M.: The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2001; 41: 79–99
- [7] Boger R.H.: Association of asymmetric dimethylarginine and endothelial dysfunction. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2003; 41: 1467–1472
- [8] Boucher J.L., Moali C., Tenu J.P.: Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell. Mol. Life Sci.*, 1999; 55: 1015–1528
- [9] Caldovic L., Tuchman M.: N-acetylglutamate and its changing role through evolution. *Biochem. J.*, 2003; 372: 279–290
- [10] Cederbaum S.D., Yu H., Grody W.W., Kern R.M., Yoo P., Iyer R.K.: Arginases I and II: do their functions overlap? *Mol. Gen. Metab.*, 2004; 81: S38–S44
- [11] Cereмуżyński L., Chamiec T., Herbaczyńska-Cedro K.: Effects of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. *Am. J. Cardiol.*, 1997; 80: 331–333
- [12] Chan J.R., Boge-Boger S.M., Tangphao O., Tsao P.S., Blaschke T.F., Cooke J.P.: Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 1040–1046
- [13] Closs E.L., Mann G.E.: Membrane transport of arginine and cationic amino acids analogs. W: Nitric oxide in physiology and pathology, red.: L.J. Ignarro. Academic Press; New York, 2000; 225–241
- [14] Colleluori D.M., Morris S.M.Jr, Ash D.E.: Expression, purification and characterization of human type II arginase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2001; 389: 135–143
- [15] Crenn P., Coudray-Lucas C., Thuillier F., Cynober L., Messing B.: Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. *Gastroenterol.*, 2000; 119: 1496–1505
- [16] Cynober L., Boucher J., Vasson M.P.: Arginine metabolism in mammals. *Nutr. Biochem.*, 1995; 6: 402–413
- [17] Cynober L.A.: Plasma amino acid level with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition*, 2002; 18: 761–766
- [18] De Bandt J.P., Cynober L.A.: Amino acids with anabolic properties. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 1998; 1: 263–272
- [19] Deves R., Boyd C.A.R.: Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure and function. *Physiol. Rev.*, 1998; 78: 487–545
- [20] Durante W.: Regulation of arginine transport and metabolism in vascular smooth muscle cells. *Cell. Biochem. Biophys.*, 2001; 35: 19–34
- [21] Evoy D., Lieberman M.D., Fahey T.J., Daly J.M.: Immunonutrition: The role of arginine. *Nutrition*, 1998; 14: 611–617
- [22] Fang Y.Z., Yang S., Wu G.: Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.*, 2002; 18: 872–879
- [23] Flynn N.E., Meininger C.J., Haynes T.E., Wu G.: The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy. *Biomed. Pharmacother.*, 2002; 56: 427–438
- [24] Griffiths R.D.: Glutamine: establishing clinical indications. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 1999; 2: 177–182
- [25] Hallemeesch M.M., Lamers W.H., Deutz N.E.: Reduced arginine availability and nitric oxide production. *Clin. Nutr.*, 2002; 21: 273–279
- [26] Hedin S.G.: Eine methode das lysin zu isolieren, nebst einigen Bemerkungen über das lysationin. *Z.Phyiol. Chem.*, 1895; 21: 297–305
- [27] Husson A., Brasse-Lagnel C., Fairand A., Renouf, Lavoine A.: Argininosuccinate synthetase from the urea cycle to the citrulline-NO cycle. *Eur. J. Biochem.*, 2003; 270: 1887–1899
- [28] Igarashi K., Kashiwagi K.: Polyamines: mysterious modulators of cellular functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 271: 559–564
- [29] Ignarro L.J., Cirino G., Casini A., Napoli C.: Nitric oxide as a signalling molecule in the vascular system: an overview. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1999; 34: 879–886
- [30] Jenkinson C.P., Grody W.W., Cederbaum S.M.: Comparative properties of arginases. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1996; 114B: 107–132
- [31] Kepka-Lenhart D., Mistry S.K., Wu G., Morris S.M. Jr: Arginase I: a limiting factor for nitric oxide and polyamine synthesis by activated macrophages? *Am. J. Physiol.*, 2000; 279: R2237–R2242
- [32] Kielstein J.T., Bode-Boger S.M., Haller H, Fliser D.: Functional changes in the ageing kidney: is there the role for asymmetric dimethylarginine? *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2003; 18: 1245–1248
- [33] Kostka-Trąbka: Arginina – znany aminokwas o nowych możliwościach zastosowań klinicznych. *Ordynator Leków*, 2002; 3: 3–7
- [34] Kunc C., Rodriguezs-Palmero M., Koletzko B., Jensen R.: Nutritional and biochemical properties of human milk, Part I: General aspects, proteins and carbohydrates. *Clin. Perinatol.*, 1999; 26: 307–333
- [35] Lee J., Ryu H., Ferrante R.J., Morris S.M. Jr, Ratan R.R.: Translational control of inducible nitric oxide synthase expression by arginine can explain the arginine paradox. *PNAS*, 2003; 100: 4843–4848
- [36] Leiper J.M., Maria J.S., Chubb A., MacAllister R.J., Charles I.G., Whitley G.S.J. i wsp.: Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deaminases. *Biochem. J.*, 1999; 343: 209–214
- [37] Li H., Meininger C.J., Hawker J.R. Jr, Haynes T.E., Kepka-Lenhart D., Mistry S.K., i wsp.: Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 2001; 280: E75–82
- [38] Li H., Meininger C.J., Hawker J.R. Jr, Kelly K.A., Morris S.M. Jr, Wu G.: Activities of arginase I and II are limiting factor for endothelial cell proliferation. *Am. J. Physiol.*, 2002; 282: R64–69
- [39] Lirk P., Hoffmann G., Rieder J.: Inducible nitric oxide synthase- time for reappraisal. *Curr. Drug. Target.s Inflamm. Allergy*, 2002; 1: 89–108
- [40] MacLeod C.L., Finley K.D., Kakuda D.K.: Y(+) type cationic amino acids transport: expression and regulation of the mCAT genes. *J. Exp. Biol.*, 1994; 196: 109–121
- [41] McBride A.E., Silver P.A.: State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell*, 2001; 106: 5–8
- [42] McCullough P.A.: Beyond serum creatinine: defining the patient with renal insufficiency and why? *Rev. Cardiovasc. Med.*, 2003; 4(Suppl.1): S2–6
- [43] Morgan D.M.: Polyamines. An overview. *Mol. Biotechnol.*, 1999; 11: 229–250
- [44] Mori M., Gotoh T.: Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 275: 715–719
- [45] Morris S.M. Jr: Arginine synthesis, metabolism and transport: regulators of nitric oxide synthesis. W: Cellular and Molecular Biology of Nitric Oxide, red.: Laskin J.D., Laskin D.L. Dekker, New York, 1999; 57–85
- [46] Morris S.M. Jr: Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annu. Rev. Nutr.*, 2002; 22: 87–105
- [47] Mungrue I.N., Bredt D.S., Stewart D.J., Husain M.: From molecules to mammals: what's NOS got to do with it? *Acta Physiol. Scand.*, 2003; 179: 123–135
- [48] Nakaki T., Hishikawa K.: The arginine paradox. *Nippon Yakurigaku Zasshi.*, 2002; 119: 7–14
- [49] Palmer R.M., Ashton D.S., Moncada S.: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.*, 1988; 333: 664–666
- [50] Pan M.D., Wiley W., Sauba M.D., Karinch A.M., Cheng-Mao L., Bruce R.: Stevens Specific reversible stimulation of system y⁺ L –arginine transport activity in human intestinal cells. *J. Gastrointest. Surg.*, 2002; 6: 379–386
- [51] Pepping J.: Creatine. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, 1999; 56(16): 1608–1610
- [52] Poremska Z., Barańczyk A., Jachimowicz J.: Arginase izoenzymes in liver and kidney of same mammals. *Acta Biochem. Pol.*, 1971; 18: 77–85
- [53] Poremska Z.: Different species of arginase in animal tissues. *Enzyme*, 1973; 15: 198–209
- [54] Potenza M.A., Nacci C., Mitolo-Chieppa D.: Immunoregulatory effects of L-arginine and therapeutic implications. *Curr Drug targets Immune Endocr Metabol Disord*, 2001; 1(1): 67–77
- [55] Potocka J., Kuehn G.D.: Natural polyamines and their biological consequence in mammals. *Acta Medica*, 2000; 43: 119–124
- [56] Preli R.B., Klein K.P., Herrington D.M.: Vascular effects of dietary L-arginine supplementation. *Atherosclerosis*, 2002; 162: 1–15
- [57] Raasch W., Schafer U., Chun J., Dominiak P.: Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding side. *Br. J. Pharmacol.*, 2001; 133: 755–780
- [58] Ramirez I., DeSantiago S., Tovar A.R., Torres N.: Amino acid intake during lactation and amino acids of plasma and human milk. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2001; 501: 415–421
- [59] Reeds P.J., Burrin D.G., Stoll B., Jahoor F.: Intestinal glutamate metabolism. *J. Nutr.*, 2000; 130(4S Suppl.): 978S–982S
- [60] Reis D.J., Regunathan S.: Agmatine: an endogenous ligand at imidazoline receptors is a novel neurotransmitter. *Annu. N. Y. Acad. Sci.*, 1999; 881: 65–80
- [61] Reis D.J., Regunathan S.: Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol. Sci.*, 2000; 21: 187–193

- [62] Roth E.: L-arginine – nitric oxide metabolism. Glutamine: a new player in this metabolic game? *Clin. Nutr.*, 1998; 17: 1–2
- [63] Salvemini D., Ischropoulos H., Cuzzocrea S.: Roles of nitric oxide and superoxide in inflammation. *Methods Mol. Biol.*, 2003; 225: 291–303
- [64] Satriano J., Kelly C.J., Blantz R.C.: An emerging role for agmatine. *Kidney Int.*, 1999; 56: 1252–1253
- [65] Solomonson L.P., Flam B.R., Pendleton L.C., Goodwin B.L., Eichler D.C.: The caveolar nitric oxide synthase/arginine regeneration system for NO production in endothelial cells. *J. Exp. Biol.*, 2003; 206: 2083–2087
- [66] Tapiero H., Mathe G., Couvreur P., Tew K.D.: I. Arginine. *Biochem. Pharmacother.*, 2002; 56: 439–445
- [67] Tapiero H., Mathe G., Couvreur P., Tew K.D.: II. Glutamine and glutamate. 2002; 56: 446–457
- [68] Tenu J.P., Lepoivre M., Moali C., Brollo M., Mansuy D., Boucher J.L.: Effects of the new arginase inhibitor N-hydroxy-L-arginine on NO synthase activity in murine macrophages. *Nitric Oxide Biol. Chem.*, 1999; 3: 427–438
- [69] Vallance P.: Nitric oxide and arginine. *Growth Horm.IGF Res.*, 1999; 9(Suppl.A): 31–35
- [70] Vallance P.: The asymmetrical dimethylarginine/dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway in the regulation of nitric oxide generation. *Clin. Sci.*, 2001; 100: 159–160
- [71] Van de Poll M.C., Soeters P.B., Deutz N.E., Fearon K.C., Dejong C.H.: Renal metabolism of amino acids: its role in interorgan amino acid exchange. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004; 79: 185–197
- [72] Wakabayashi Y.: Tissue-selective expression of enzymes of arginine synthesis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, 1998; 1: 335–339
- [73] Wesininger H.: Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog. Neurobiol.*, 2001; 64: 365–391
- [74] Windmueller H.G.: Source and fate of circulating citrulline. *Am. J. Physiol.*, 1981; 241: E473–480
- [75] Wu G.: Urea synthesis in enterocytes of developing pigs. *Biochem. J.*, 1995; 312: 717–723
- [76] Wu G.: Synthesis of citrulline and arginine from proline in enterocytes of postnatal pigs. *Am. J. Physiol.*, 1997; 272: G1382–1390
- [77] Wu G.: Intestinal mucosal amino acid catabolism. *J. Nutr.*, 1998; 128: 1249–1252
- [78] Wu G., Morris S.M. Jr: Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.*, 1998; 336: 1–17
- [79] Wu G., Meiniger C.J.: Arginine nutrition and cardiovascular function. *J. Nutr.*, 2000; 130: 2626–2629
- [80] Wu G., Meininger C.J., Knabe D.A., Bazer F.W., Rhoads J.M.: Arginine nutrition in development, health and disease. *Curr. Opin. Clin Nutr. Metab. Care*, 2000; 3: 59–66
- [81] Wu G., Meininger C.J.: Regulation of nitric oxide synthesis by dietary factors. *Annu. Rev. Nutr.*, 2002; 22: 61–86
- [82] Wyss M., Kaddurah-Daouk R.: Creatine and creatinine metabolism. *Physiol. Rev.*, 2000; 80: 1107–1113
- [83] Yu Y.M., Burke J.F., Tompkins R.G., Martin R., Young V.R.: Quantitative aspects of interorgan relationships among arginine and citrulline metabolism. *Am. J. Physiol.*, 1996; 271: E 1098–1109