THE ROLE OF L-ARGININE IN CARDIOVASCULAR SYSTEM

ULOGA L-ARGININA U KARDIOVASKULARNOM SISTEMU

Emina Sudar Milovanović¹, Milan Obradović¹, Vladan Bajić¹,
Nikola Bogdanović¹, Đorđe Radak², Esma R. Isenović^{1,3,4}

Summary

The essential amino acid, L-Arginine (L-Arg) has an important role in the cardiovascular system. Literature data show that L-Arg is the only substrate for the production of nitric oxide (NO), from which L-Arg develops its effects on the cardiovascular system. As a free radical, NO is synthesized in all mammal cells by L-Arg with the activity of NO synthase (NOS). In the states of hypertension, diabetes, hypercholesterolemia and vascular inflammation, a disorder occurs in the metabolic pathway of the synthesis of NO from L-Arg which all together bring alterations to blood vessels. Clinical studies show that L-Arg has an effect on thrombocytes, the process of coagulation and the fibrolytic system. All the new data summarized in this review suggest that L-Arg could be one of important therapeutic molecules for improving cardiovascular disorders.

Keywords: L-Arg, NO, NOS, arginase, cardiovascular system

Sažetak

Esencijalna aminokiselina, L-Arginin (L-Arg) ima veoma važnu ulogu u kardiovaskularnom sistemu. Podaci iz literature pokazuju da je L-Arg jedini supstrat za produkciju azot-monoksida (NO), preko koga L-Arg i ostvaruje svoje efekte na kardiovaskularni sistem. Kao slobodni radikal, NO se sintetiše u svim ćelijama sisara od L-Arg uz aktivnost enzima NO sintaze (NOS). U stanjima hipertenzije, dijabetesa, hiperholesterolemije i vaskularne inflamacije dolazi do poremećaja metaboličkog puta sinteze NO od L-Arg, što sve zajedno dovodi do oštećenja krvnih sudova. Kliničke studije ukazuju da L-Arg može imati efekte na trombocite, proces koagulacije kao i na fibrinolitički sistem. U okviru ovog preglednog članka sumirani su najnoviji podaci iz literature koji sugerišu da bi L-Arg mogao biti jedan od bitnih terapijskih molekula u poboljšanju lečenja kardiovaskularnih poremećaja.

Ključne reči: L-Arg, NO, NOS, arginaza, kardiovaskularni sistem

OPSTE OSOBINE L-ARGININA

Do danas je poznato najmanje pet enzima koji koriste esencijalnu aminokiselinu L-Arginin (L-Arg) kao supstrat za svoju aktivnost. Osim arginil-tRNA sintetaza, četiri grupe enzima kod sisara koriste slobodni L-Arg kako supstrat i to su: azot-monoksid (NO) sintaza (NOS) (najmanje tri izoforme), arginaza (2 izoforme), L-Arg-glicin amidinotransferaza i L-Arg dekarboksilaze [35]. Iako postoji više puteva katabolizma L-Arg, postoji samo jedan put sinteze L-Arg, i to je put koji vodi od citrulina [35]. Kod sisara, citrulin se sintetiše u crevima od glutamina i prolina, a glavno mesto za endogenu biosintezu L-Arg od citrulina je u bubrezima [16; 49]. Osim u bubrezima, citrulin će metabolisati u L-Arg u svim tkivima koja ekspimiraju enzime argino-sukcinat sintetazu (ASS) i argino-sukcinat liazu (ASL) u ciklusu poznatom kao "citrulin-NO ciklus" [35; 49; 64]. Velike količine L-Arg se sintetišu u ciklusu uree u hepatocitima, i na ovaj način sintetisani L-Arg se odmah hidrolizuje u ornitin i ureu, što ima za posledicu da urea ciklus ne pruža dovoljno L-Arg za celokupan organizam. Promene u dostupnosti L-Arg kao i krajnjih produkata različitih metabo-

ličkih puteva L-Arg u organizmu mogu imati značajne fiziološke posledice [35]. U slučaju nedovoljne sinteze endogenog L-Arg, neophodno je obezbediti dodatni unos L-Arg ishranom za optimalan rast, [54] i za regeneraciju tkiva [49; 51]. U zavisnosti od stanja uhranjenosti i faze razvoja, normalne koncentracije L-Arg u plazmi ljudi su u rasponu od 40 to 100 $\mu\text{mol/l}$ [4].

Pokazano je da metabolizam L-Arg ima veoma važnu ulogu u kardiovaskularnom sistemu [35], upravo zbog njegove uloge prekursora za sintezu molekula NO, slobodnog radikala koji se sintetiše u svim ćelijama sisara od L-Arg uz aktivnost enzima NOS [42; 46; 49; 61]. Podaci iz literature pokazuje da je L-Arg jedini supstrat za produkciju NO, preko koga i ostvaruje svoje efekte na kardiovaskularni sistem. Kliničke studije u koje su bili uključeni hipertenzivni i dijabetični pacijenti kao i zdrave osobe, ukazuju da L-Arg može regulisati vaskularnu hemostazu [14; 18; 19; 44]. Eksperimentalni rezultati dobijeni na životinjama kao i *in vitro* podaci sugerišu da L-Arg može imati efekte na trombocite, proces koagulacije kao i na

fibrinolitički sistem [2; 19; 28; 44; 53], što ukazuje na novi terapijski potencijal aminokiseline L-Arg [14]. U okviru ovog preglednog članka sumirani su najnoviji podaci iz literature koji ukazuju na značaj i ulogu L-Arg u fiziologiji i patofiziologiji kardiovaskularnog sistema.

ULOGA L-ARGININA U KARDIOVASKULARNOM SISTEMU

U kardiovaskularnoj fiziologiji i patofiziologiji ključnu ulogu ima efekat NO na vaskularni endotelium [35]. Poremećaj metaboličkog puta L-Arg/NO u endotelu je jedan od najčešćih mehanizama kojima faktori rizika za kardiovaskularna oboljenja, kao što su hiperholesterolemija [5], hipertenzija [38], pušenje [8], dijabetes [27], homocisteinemia [50], i vaskularna inflamacija [23], ostvaruju svoje negativne efekte na zidove krvnih sudova [25]. Aminokiselina L-Arg je jedini prekursor za sintezu NO. Katabolički enzimi L-Arg, koji svojim delovanjem najviše utiču na kardiovaskularni sistem jesu NOS i arginaza [31; 35; 45; 47].

Tri izoforme NOS su klonirane i okarakterisane do sada: neuronalna NOS (nNOS), inducibilna NOS (iNOS) i endotelna NOS (eNOS) [7; 30; 66], i sve tri izoforme NOS su prisutne u kardiovaskularnom tkivu [24; 25; 41; 43]. L-Arg je substrat enzima NOS, koji ga konvertuje u aminokiselinu L-citrulin uz oslobađanje NO (**Slika 1.**). Iz ovako nastalog citrulina, L-Arg, takođe, može biti i recikliran pomoću enzima ASS i ASL [35; 64], ali i razložen arginaznom.

L-Arg se pod delovanjem enzima arginaze pretvara u L-ornitin, koji je prekursor u sintezi poliamina i uree, molekula bitnih za ciklus uree [49]. Takođe, L-Arg je i prekursor za kreatin, jedinjenje koje ima značajnu ulogu u energetskom metabolizmu mišića, nerava i testisa. Kreatin takođe, bitno doprinosi katabolizmu L-Arg i sintezi agmatina i proteina [54; 55; 59]. Indukcija enzima arginaze dovodi do pojačanog katabolizma L-Arg do ornitina [60]. Pošto je L-Arg limitirajući faktor za sintezu NO [26], može se očekivati da je i aktivnost arginaze uključena u indukovanu sintezu NO. Na osnovu zapažanja da inhibicija aktivnosti arginaze dovodi do povećane proizvodnje NO u endotelu, [1; 10; 21; 67; 69; 70], arginaza u endotelnim ćelijama najverovatnije ima ulogu u regulaciji dostupnosti substrata za sintezu NO [35]. U patofiziološkim stanjima kao što su hipertenzija i ishemijska reperfuzija, aktivnost endotelne arginaze je povećana što doprinosi disfunkciji endotela, daljim smanjenjem koncentracije L-Arg, što sve zajedno dovodi do disfunkcije NOS i poremećene produkcije NO [1; 21; 35; 43; 67; 68; 70]. Pokazano je da su aktivnosti oba enzima, i NOS i arginaze značajno smanjeni u endotelnim ćelijama dijabetičnih pacova u poređenju sa kontrolama [35; 63]. Aktivnost arginaze može biti smanjena ili inhibirana N-hidroksiargininom, posrednikom u signalnom putu NOS [52]. Tako, usled niske aktivnosti arginaze, dostupno je više L-Arg kao supstrata za enzime eNOS i iNOS čija aktivnost je stimulisana, što za rezultat ima povećanu produkciju NO [47]. Međutim, ekspresija arginaze kao i metabolizam L-Arg u različitim patofiziološkim stanjima nije u potpunosti okarakterisan, pa u skladu sa tim, nivo ekspresije ili aktivnosti arginaze može predstavljati terapijsku metu za neka kardiovaskularna oboljenja [35; 52].

Slika 1. Shematski prikaz mehanizma nastanka azot-monoksida (NO) od L-Arginina u endotelnim ćelijama

NO- azot-monoksid; **eNOS**- endotelna NO-sintaza; **iNOS**- inducibilna NOS; **nNOS**- neuronalna NOS; **NADP**- nikotinamid adenin dinukleotid fosfat.

Akutna i hronična primena L-Arg poboljšava funkciju endotela u animalnim modelima hiperholesterolemije i ateroskleroze [3]. Pokazano je da povećanje koncentracije L-Arg u endotelnim ćelijama dovodi do povećanja produkcije NO od strane eNOS na doznno zavisnan način [20]. Povećanje koncentracije L-Arg u plazmi dovodi do povećane produkcije kako vaskularnog tako i sistemskog NO [34; 36; 52; 56; 58; 64]. Studije u kojima su korišćene glatke mišićne ćelije krvnih sudova (VSMC) pokazale su da je limitirajući faktor za povećanje mogućnosti sinteze NO uz pomoć iNOS upravo mogućnost recikliranja L-Arg [35; 65]. Schott i sar. pokazali su da aktivnost iNOS zavisi od koncentracije ekstracelularnog L-Arg [40]. Pojava u kojoj dodatno povećanje koncentracije L-Arg u ćelijama u kojima je koncentracija L-Arg u fiziološkom opsegu i pri kojoj bi trebalo da je enzim iNOS saturisan, dovodi do povećanja koncentracije NO, nazvana je "L-argininski paradoks" [17; 32]. U prilog ovom paradoksu ide i mogućnost postojanja intracelularnog pula L-Arg koji nije dostupan enzimu iNOS i neophodan je upravo ekstracelularni L-Arg za aktivnost iNOS i sledstvenu produkciju NO [6; 11; 37]. Dakle, termin "L-argininski paradoks" odnosi se na specifičnu situaciju u kojoj suplementacija L-Arg stimuliše aktivnost NOS i produkciju NO, iako je nivo L-Arg u plazmi u fiziološkim granicama [9].

Pokazano je da sistemsko ili oralno davanje L-Arg poboljšava kardiovaskularnu funkciju i smanjuje ishemiju srca kod pacijenata sa bolešću koronarnih arterija [34; 49; 62], kao i da dovodi do smanjenja krvnog pritiska i vaskularnog otpora u bubrezima kod hipertenzivnih bolesnika s normalnom ili nedovoljnom bubrežnom funkcijom [22; 49]. Iako je koncentracije L-Arg u plazmi nepromijenjena kod pacijenata sa hiperholesterolemijom, oralno ili intravenozno, davanje L-Arg može povratiti funkcije endotela kod ovih pacijenata [33]. Osim toga, pošto se većina endogenog L-Arg sintetiše u bubrezima, disfunkcija bubrega može takođe pridoneti redukciji nivoa L-Arg u plazmi [35]. Kod pacijenata sa sindromom kratkog creva, zapaženo je da je stvaranje citrulina smanjeno, što dovodi i do smanjenja nivoa L-Arg u plazmi [13; 35; 39; 57], pa se stoga, L-Arg smatra esencijalnom aminokiselinom u isharni u pacijenata s oslabljenom funkcijom bubrega ili creva [35]. Postoji mišljenje da je ateroskleroza uzrokovana nedostatkom L-Arg, najverovatnije usled poremećenog odnosa u koncentraciji lizina i L-Arg [29] kao i interakcije između estrogena i metabolizma L-Arg [12; 49].

Podaci iz literature, kao i naši kako objavljeni [15; 45; 47; 48] tako i naši preliminarni rezultati koji se odnose na uloge L-Arg u kardiovaskularnom sistemu, sugerise se da bi L-Arg mogao biti jedan od bitnih terapijskih molekula u poboljšanju lečenja kardiovaskularnih poremećaja.

ZAHVALNICA

Ovaj rad je podržan projektom broj 173033 (E.R.I.) finansiranim od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

LITERATURA

- Berkowitz, D. E., White, R., Li, D., *et al.* "Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels." *Circulation* (2003) 108 (16): 2000-2006.
- Bode-Boger, S. M., Boger, R. H., Kienke, S., *et al.* "Chronic dietary supplementation with L-arginine inhibits platelet aggregation and thromboxane A2 synthesis in hypercholesterolaemic rabbits in vivo." *Cardiovasc Res* (1998) 37 (3): 756-764.
- Bode-Boger, S. M., Scalera, F. and Ignarro, L. J. "The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio." *Pharmacol Ther* (2007) 114 (3): 295-306.
- Boger, R. H. and Bode-Boger, S. M. "The clinical pharmacology of L-arginine." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* (2001) 41: 79-99.
- Boger, R. H., Bode-Boger, S. M., Szuba, A., *et al.* "Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia." *Circulation* (1998) 98 (18): 1842-1847.
- Bogle, R. G., Baydoun, A. R., Pearson, J. D., *et al.* "L-arginine transport is increased in macrophages generating nitric oxide." *Biochem J* (1992) 284 (Pt 1): 15-18.
- Bredt, D. S., Hwang, P. M., Glatt, C. E., *et al.* "Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase." *Nature* (1991) 351 (6329): 714-718.
- Celermajer, D. S., Sorensen, K. E., Georgakopoulos, D., *et al.* "Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults." *Circulation* (1993) 88 (5 Pt 1): 2149-2155.
- Chaturvedi, R., Asim, M., Lewis, N. D., *et al.* "L-arginine availability regulates inducible nitric oxide synthase-dependent host defense against *Helicobacter pylori*." *Infect Immun* (2007) 75 (9): 4305-4315.
- Chicoine, L. G., Paffett, M. L., Young, T. L., *et al.* "Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells." *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2004) 287 (1): L60-68.
- Closs, E. I., Scheld, J. S., Sharafi, M., *et al.* "Substrate supply for nitric-oxide synthase in macrophages and endothelial cells: role of cationic amino acid transporters." *Mol Pharmacol* (2000) 57 (1): 68-74.
- Cooke, J. P. "Is atherosclerosis an arginine deficiency disease?" *J Invest Med* (1998) 46 (8): 377-380.
- Crenn, P., Coudray-Lucas, C., Thuillier, F., *et al.* "Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans." *Gastroenterology* (2000) 119 (6): 1496-1505.
- Cylwik, D., Mogielnicki, A. and Buczek, W. "L-arginine and cardiovascular system." *Pharmacol Rep* (2005) 57 (1): 14-22.
- Dobutovic, B., Sudar, E., Tepavcevic, S., *et al.* "Effects of ghrelin on protein expression of antioxidative enzymes and iNOS in the rat liver." *Arch Med Sci* (2014) 10 (4): 806-816.
- Featherston, W. R., Rogers, Q. R. and Freedland, R. A. "Relative importance of kidney and liver in synthesis of arginine by the rat." *Am J Physiol* (1973) 224 (1): 127-129.
- Forstermann, U., Closs, E. I., Pollock, J. S., *et al.* "Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions." *Hypertension* (1994) 23 (6 Pt 2): 1121-1131.
- Giugliano, D., Marfella, R., Verrazzo, G., *et al.* "L-arginine for testing endothelium-dependent vascular functions in health and disease." *Am J Physiol* (1997) 273 (3 Pt 1): E606-612.
- Gryglewski, R. J., Grodzinska, L., Kostka-Trabka, E., *et al.* "Treatment with L-arginine is likely to stimulate generation of nitric oxide in patients with peripheral arterial obstructive disease." *Wien Klin Wochenschr* (1996) 108 (4): 111-116.
- Harrison, D. G. "Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction." *J Clin Invest* (1997) 100 (9): 2153-2157.
- Hein, T. W., Zhang, C., Wang, W., *et al.* "Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase." *FASEB J* (2003) 17 (15): 2328-2330.
- Higashi, Y., Oshima, T., Ozono, R., *et al.* "Effect of L-arginine infusion on systemic and renal hemodynamics in hypertensive patients." *Am J Hypertens* (1999) 12 (1 Pt 1): 8-15.
- Hingorani, A. D., Cross, J., Kharbanda, R. K., *et al.* "Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans." *Circulation* (2000) 102 (9): 994-999.

24. Isenovic, E. and LaPointe, M. C. "Role of Ca(2+)-independent phospholipase A(2) in the regulation of inducible nitric oxide synthase in cardiac myocytes." *Hypertension* (2000) 35 (1 Pt 2): 249-254.
25. Isenovic, E. R., Meng, Y., Divald, A., *et al.* "Role of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in angiotensin II and insulin-like growth factor-1 modulation of nitric oxide synthase in vascular smooth muscle cells." *Endocrine* (2002) 19 (3): 287-292.
26. Jia, Y. X., Pan, C. S., Yang, J. H., *et al.* "Altered L-arginine/nitric oxide synthase/nitric oxide pathway in the vascular adventitia of rats with sepsis." *Clin Exp Pharmacol Physiol* (2006) 33 (12): 1202-1208.
27. Johnstone, M. T., Creager, S. J., Scales, K. M., *et al.* "Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus." *Circulation* (1993) 88 (6): 2510-2516.
28. Kawabata, A. and Hata, T. "Attenuation by prolonged nitric oxide synthase inhibition of the enhancement of fibrinolysis caused by environmental stress in the rat." *Br J Pharmacol* (1996) 119 (2): 346-350.
29. Kritchevsky, D. "Dietary protein and atherosclerosis." *Atherosclerosis* (1983) 49 (2): 209-210.
30. Lamas, S., Marsden, P. A., Li, G. K., *et al.* "Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform." *Proc Natl Acad Sci U S A* (1992) 89 (14): 6348-6352.
31. LaPointe, M. C. and Isenovic, E. "Interleukin-1 β regulation of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 involves the p42/44 and p38 MAPK signaling pathways in cardiac myocytes." *Hypertension* (1999) 33 (1 Pt 2): 276-282.
32. Lee, J., Ryu, H., Ferrante, R. J., *et al.* "Translational control of inducible nitric oxide synthase expression by arginine can explain the arginine paradox." *Proc Natl Acad Sci U S A* (2003) 100 (8): 4843-4848.
33. Maxwell, A. J., Anderson, B., Zapien, M. P., *et al.* "Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is reversed by a nutritional product designed to enhance nitric oxide activity." *Cardiovasc Drugs Ther* (2000) 14 (3): 309-316.
34. Maxwell, A. J. and Cooke, J. P. "Cardiovascular effects of L-arginine." *Curr Opin Nephrol Hypertens* (1998) 7 (1): 63-70.
35. Morris, S. M., Jr. "Arginine metabolism in vascular biology and disease." *Vasc Med* (2005) 10 Suppl 1: S83-87.
36. Nagase, S., Takemura, K., Ueda, A., *et al.* "A novel nonenzymatic pathway for the generation of nitric oxide by the reaction of hydrogen peroxide and D- or L-arginine." *Biochem Biophys Res Commun* (1997) 233 (1): 150-153.
37. Nicholson, B., Manner, C. K., Kleeman, J., *et al.* "Sustained nitric oxide production in macrophages requires the arginine transporter CAT2." *J Biol Chem* (2001) 276 (19): 15881-15885.
38. Panza, J. A., Quyyumi, A. A., Brush, J. E., Jr., *et al.* "Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension." *N Engl J Med* (1990) 323 (1): 22-27.
39. Pita, A. M., Wakabayashi, Y., Fernandez-Bustos, M. A., *et al.* "Plasma urea-cycle-related amino acids, ammonium levels, and urinary orotic acid excretion in short-bowel patients managed with an oral diet." *Clin Nutr* (2003) 22 (1): 93-98.
40. Schott, C. A., Gray, G. A. and Stoclet, J. C. "Dependence of endotoxin-induced vascular hyporeactivity on extracellular L-arginine." *Br J Pharmacol* (1993) 108 (1): 38-43.
41. Schulz, R., Rassaf, T., Massion, P. B., *et al.* "Recent advances in the understanding of the role of nitric oxide in cardiovascular homeostasis." *Pharmacol Ther* (2005) 108 (3): 225-256.
42. SM, M. J. (1998). *Arginine synthesis, metabolism and transport: regulators of nitric oxide synthesis*. New York, NY, Marcel Dekker.
43. Soskic, S. S., Dobutovic, B. D., Sudar, E. M., *et al.* "Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) and its Potential Role in Insulin Resistance, Diabetes and Heart Failure." *Open Cardiovasc Med J* (2011) 5: 153-163.
44. Stief, T. W., Weippert, M., Kretschmer, V., *et al.* "Arginine inhibits hemostasis activation." *Thromb Res* (2001) 104 (4): 265-274.
45. Stojiljkovic, M., Zakula Z, Koricanac, G., *et al.* (2012) "Regulation of Cardiac Nitric Oxide Synthase in Acute Type I Diabetes: Modulation of L-Arginine Availability and Arginase Activity." Vol. 5, 1-9.
46. Stuehr, D. J. "Structure-function aspects in the nitric oxide synthases." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* (1997) 37: 339-359.
47. Sudar, E., Dobutovic, B., Soskic, S., *et al.* "Regulation of inducible nitric oxide synthase activity/expression in rat hearts from ghrelin-treated rats." *J Physiol Biochem* (2011) 67 (2): 195-204.
48. Sudar, E., Obradovic, M., Zafirovic, S., *et al.* "Role Of Erk 1/2 And Akt In The Regulation Of eNOS And iNOS In Cardiovascular System." *Medicinska Istrazivanja* (2012) VOL. 46 (3): 35-42.
49. Tapiero, H., Mathe, G., Couvreur, P., *et al.* "I. Arginine." *Biomed Pharmacother* (2002) 56 (9): 439-445.
50. Tawakol, A., Omland, T., Gerhard, M., *et al.* "Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans." *Circulation* (1997) 95 (5): 1119-1121.
51. Thornton, F. J., Schaffer, M. R. and Barbul, A. "Wound healing in sepsis and trauma." *Shock* (1997) 8 (6): 391-401.
52. Tousoulis, D., Antoniades, C., Tentolouris, C., *et al.* "L-arginine in cardiovascular disease: dream or reality?" *Vasc Med* (2002) 7 (3): 203-211.
53. Tsao, P. S., Theilmeyer, G., Singer, A. H., *et al.* "L-arginine attenuates platelet reactivity in hypercholesterolemic rabbits." *Arterioscler Thromb* (1994) 14 (10): 1529-1533.
54. Visek, W. J. "Arginine needs, physiological state and usual diets. A re-evaluation." *J Nutr* (1986) 116 (1): 36-46.
55. Walker, J. B. "Creatine: biosynthesis, regulation, and function." *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* (1979) 50: 177-242.
56. Walter, R., Mark, M. and Reinhart, W. H. "Pharmacological concentrations of arginine influence human whole blood viscosity independent of nitric oxide synthase activity in vitro." *Biochem Biophys Res Commun* (2000) 269 (3): 687-691.
57. Wasa, M., Takagi, Y., Sando, K., *et al.* "Long-term outcome of short bowel syndrome in adult and pediatric patients." *JPEN J Parenter Enteral Nutr* (1999) 23 (5 Suppl): S110-112.
58. Wascher, T. C., Posch, K., Wallner, S., *et al.* "Vascular effects of L-arginine: anything beyond a substrate for the NO-synthase?" *Biochem Biophys Res Commun* (1997) 234 (1): 35-38.
59. Wu, G. "Intestinal mucosal amino acid catabolism." *J Nutr* (1998) 128 (8): 1249-1252.
60. Wu, G. "Synthesis of citrulline and arginine from proline in enterocytes of postnatal pigs." *Am J Physiol* (1997) 272 (6 Pt 1): G1382-1390.
61. Wu, G., Flynn, N. E., Flynn, S. P., *et al.* "Dietary protein or arginine deficiency impairs constitutive and inducible nitric oxide synthesis by young rats." *J Nutr* (1999) 129 (7): 1347-1354.
62. Wu, G. and Meininger, C. J. "Arginine nutrition and cardiovascular function." *J Nutr* (2000) 130 (11): 2626-2629.
63. Wu, G. and Meininger, C. J. "Impaired arginine metabolism and NO synthesis in coronary endothelial cells of the spontaneously diabetic BB rat." *Am J Physiol* (1995) 269 (4 Pt 2): H1312-1318.
64. Wu, G. and Morris, S. M., Jr. "Arginine metabolism: nitric oxide and beyond." *Biochem J* (1998) 336 (Pt 1): 1-17.
65. Xie, L. and Gross, S. S. "Argininosuccinate synthetase overexpression in vascular smooth muscle cells potentiates immunostimulant-induced NO production." *J Biol Chem* (1997) 272 (26): 16624-16630.
66. Xie, Q. W., Cho, H. J., Calaycay, J., *et al.* "Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages." *Science* (1992) 256 (5054): 225-228.
67. Xu, W., Kaneko, F. T., Zheng, S., *et al.* "Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary arterial hypertension." *FASEB J* (2004) 18 (14): 1746-1748.
68. Zakula, Z., Koricanac, G., Putnikovic, B., *et al.* "Regulation of the inducible nitric oxide synthase and sodium pump in type 1 diabetes." *Med Hypotheses* (2007) 69 (2): 302-306.
69. Zhang, C., Hein, T. W., Wang, W., *et al.* "Constitutive expression of arginase in microvascular endothelial cells counteracts nitric oxide-mediated vasodilatory function." *FASEB J* (2001) 15 (7): 1264-1266.
70. Zhang, C., Hein, T. W., Wang, W., *et al.* "Upregulation of vascular arginase in hypertension decreases nitric oxide-mediated dilation of coronary arterioles." *Hypertension* (2004) 44 (6): 935-943.