

# Arginina i cytrulina a hypotrofia płodu – część II

## Arginine and citrulline and fetal hypotrophy – part II

© GINEKOLOGIA I POŁOŻNICTWO 1 (11) 2009

Artykuł oryginalny/Original article

AGATA PARDEJ<sup>1</sup>, MARIAN GRYBOŚ<sup>2</sup>, JANUSZ KUBICKI<sup>3</sup>, ANDRZEJ GAMIAN<sup>4</sup>,  
WOJCIECH GUZIKOWSKI<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Opolskie Centrum Onkologii w Opolu

Dyrektor: lek. med. Wojciech Redelbach

<sup>2</sup> I Katedra i Klinika Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej  
we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Marian Gryboś

<sup>3</sup> Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu, Instytut Położnictwa  
Katedra i Zakład Położnictwa

Kierownik: prof. dr hab. Janusz Kubicki

<sup>4</sup> Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, Katedra  
i Zakład Biochemii Lekarskiej Akademii Medycznej we Wrocławiu

<sup>5</sup> Szpital Ginekologiczno - Położniczy w Opolu

Dyrektor: dr n. med. Wojciech Guzikowski

Adres do korespondencji/Address for correspondence

Opolskie Centrum Onkologii

ul. Katowicka 66a, 45-060 Opole

tel. 077 441 61 49, e-mail: pardej@onkologia.opole.pl

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count 1250/1419

Tabele/Tables 0

Ryciny/Figures 2

Piśmiennictwo/References 14

Received: 22.12.08

Accepted: 16.01.09

Published: 10.03.09

### Streszczenie

*Wstęp.* Piśmiennictwo podaje, że próby leczenia hypotrofii płodu za pomocą egzogennej L-argininy przyniosły dobre efekty kliniczne.

*Cel.* Celem pracy była porównanie stężeń argininy i cytruliny (metabolitu argininy w organizmie) we krwi ciężarnych kobiet w przypadkach hypotrofii płodu leczonych L-argininą z grupą ciężarnych zdrowych.

*Material i metody.* Grupa kontrolna - 24 kobiety w III trymestrze ciąży fizjologicznej. Grupa badana - 29 kobiet w III trymestrze ciąży ze stwierdzoną hypotrofią płodu leczonych L-argininą w dawce 3g na dobę. Oznaczenie aminokwasów wykonano metodą chromatografii HPLC. *Wyniki.* W grupie ciężarnych zdrowych średnie stężenie argininy wynosiło 108.79 μmol/l a cytruliny 61.59 μmol/l. W grupie kobiet z hypotrofią stężenie argininy wynosiło 109.45 μmol/l, a po leczeniu 146.47 μmol/l. podczas, gdy stężenie cytruliny kształtowało się odpowiednio na poziomie: 65.11 μmol/l i 155.33 μmol/l.

*Wnioski.* Stężenie argininy i cytruliny w surowicy krwi kobiet ciężarnych z hypotrofią płodu kształtuje się na poziomie charakterystycznym dla kobiet z ciążą fizjologiczną. Po leczeniu L-argininą nastąpił istotny statystycznie wzrost stężenia argininy i cytruliny w surowicy krwi ciężarnych z hypotrofią w porównaniu do wartości przed leczeniem i w porównaniu do grupy kontrolnej.

**Słowa kluczowe:** arginina, cytrulina, hypotrofia płodu, leczenie L-argininą.

### Summary

*Introduction.* According to literature, good clinical results were obtained for trials of fetal hypotrophy treatment with exogenous L-arginine.

*Aim.* The aim of the paper was to compare of arginine and citrulline (arginine's metabolite in human body) concentrations in blood of pregnant women in cases of fetal hypotrophy treated with L-arginine with the group of healthy pregnant.

*Materials and methods.* Control group - 24 women at III trimester of physiological pregnancy. Examined group - 29 women at III trimester of pregnancy with diagnosed fetal hypotrophy treated with L-arginine at a dose of 3g a day. Amino acids determination was performed by the method of HPLC.

*Results.* Average concentration of arginine amounted to 108.79  $\mu\text{mol/l}$  and citrulline to 61.59  $\mu\text{mol/l}$  in group of healthy pregnant women. In group of women with hypotrophy arginine concentration amounted to 109.45  $\mu\text{mol/l}$  and after the treatment it increased to 146.47  $\mu\text{mol/l}$ , while citrulline concentrations were found to achieve levels of 65.11  $\mu\text{mol/l}$  and 155.33  $\mu\text{mol/l}$ , respectively.

*Conclusions.* Arginine and citrulline concentrations in blood serum of pregnant women with fetal hypotrophy were on the level characteristic for women with physiological pregnancy. After treatment with L-arginine statistically significant increase of arginine and citrulline concentrations in blood serum of pregnant with hypotrophy occurred in comparison to the values obtained before the treatment and for control group.

**Keywords:** arginine, citrullin, fetal hypotrophy, treatment with L-arginine

## WSTĘP

Hypotrofię płodu rozpoznajemy kiedy podczas ultrasonograficznych pomiarów biometrycznych płodu stwierdzimy niedobór masy ciała płodu w stosunku do masy należnej dla danego wieku ciążowego. Szacuje się, że procentowy odsetek występowania hypotrofii wynosi od 3-10% wszystkich ciąży. Wewnątrzmaciczna hypotrofia stanowi poważny problem zarówno dla położników oraz neonatologów bowiem jest związana ze zwiększoną częstością występowania zamartwicy wewnątrzmacicznej płodu i ze zwiększoną umieralnością okołoporodową noworodków [1-3].

Na przestrzeni ostatnich lat ukazało się kilka doniesień o skutecznym leczeniu hypotrofii płodu za pomocą egzogennej L-argininy [4-8]. Zgodnie z założeniem tej metody leczenia, arginina działa tu za pośrednictwem uwalnianego z niej tlenu azotu. Związek ten wywiera szereg korzystnych zmian w organizmie, przede wszystkim rozkurcza naczynia krwionośne, lecz jest bardzo nietrwały i nie możliwe jest jego bezpośrednie oznaczenie. Celem pracy było oznaczenie stężeń argininy i cytruliny w surowicy krwi kobiet ciężarnych w przypadkach hypotrofii płodu przed i po zastosowanym leczeniu za pomocą L-argininy i porównaniu uzyskanych wartości ze stężeniami tych aminokwasów u kobiet w ciąży fizjologicznej. Poza argininą postanowiono także oznaczyć cytrulinę ponieważ aminokwas ten powstaje w organizmie z argininy w reakcji, w której tworzony jest tlenek azotu w ilościach równomolarnych do cytruliny.

## MATERIAŁ I METODY

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu (KB-

## INTRODUCTION

Fetal hypotrophy is diagnosed during ultrasonographic biometric measurements when fetal body mass deficiency versus appropriate mass for proper gestational is stated. Percentage of hypotrophy occurrence is estimated to 3-10% of all pregnancies. Intrauterine hypotrophy is a serious problem for obstetricians as well as for neonatologist because it is connected with increased frequency of intrauterine fetal asphyxia occurrence and with increased perinatal mortality rate of newborns [1-3].

Few reports concerning effective treatment of fetal hypotrophy with exogenous L-arginine have been recently published [4-8]. According to presumption of the treatment method, arginine acts by hand of nitrogen oxide that is liberated from it. The compound causes numerous beneficial changes in the organism, among others: it caused blood vessels diastole, but that effect is very undurable and its direct determination is impossible. The aim of the study was to determine arginine and citrulline concentrations in blood serum of women with fetal hypotrophy before and after application of L-arginine treatment and to compare obtained results to concentrations of these amino acids in blood serum of healthy pregnant women. Except for arginine, citrulline was also thought to be determined because that amino acid arises in human body from arginine in a reaction in which nitrogen oxide is produced in amount equivalent to the amount of citrulline.

## MATERIALS AND METHODS

Acceptances of Bioethical Commission of Medical University in Wrocław (KB-1190/2003) and examined patients were obtained for the experiment. The study

1190/2003) oraz badanych pacjentek. Badaniami objęto kobiety ciężarne hospitalizowane w Szpitalu Ginekologiczno-Położniczym w Opolu w latach 2004-2005. Materiał kliniczny podzielono na dwie grupy. Grupę kontrolną stanowiły 24 kobiety ciężarne zdrowe w III trymestrze ciąży, u których ultrasonograficznie potwierdzono eutrofię płodu. Grupę badaną stanowiło 29 kobiet ciężarnych w III trymestrze ciąży ze stwierdzoną hypotrofią płodu. Kryterium rozpoznania hypotrofii płodu w grupie badanej było stwierdzenie ujemnej różnicy w parametrach biometrycznych o 2 lub więcej tygodni w stosunku do danych z tabeli odpowiadających danemu wiekowi ciążowemu. Średnie wieku kobiet ciężarnych w badanych grupach prawie nie różniły się pomiędzy sobą i wyniosły 28 lat dla grupy badanej i 27 lat dla grupy kontrolnej. Kobiety ciężarne z rozpoznąną wewnątrzmaciczną hypotrofią płodu poddane zostały terapii za pomocą L-argininy, którą stosowano doustnie w dawce 3 razy dziennie po 1g. Czas leczenia wynosił od 1 do 5 tygodni; średnio 2 tygodnie. Przed rozpoczęciem i po zakończeniu leczenia L-argininą każda pacjentka z grupy badanej miała wykonane badanie ultrasonograficzne biometrii płodu oraz oznaczone stężenie argininy i cytruliny w surowicy krwi. Kobietom ciężarnym z grupy badanej oraz z grupy kontrolnej krew do oznaczeń aminokwasów pobierano na czczo, przed wdrożeniem postępowania terapeutycznego, z żyły łokciowej, na skrzep w ilości 4.5 ml. Po odwirowaniu, oddzieloną od skrzepu surowicę zamrażano w temperaturze  $-21^{\circ}\text{C}$ . Tak przygotowany materiał przechowywano w stanie zamrożenia do momentu wykonania oznaczeń. Stężenie argininy i cytruliny w surowicy krwi oznaczano metodą chromatografii wysokociśnieniowej HPLC. Odbiałczanie surowicy: do 1 ml surowicy dodawano 30 mg kwasu sulfosalicylowego (Sigma) i po wymieszaniu na wytrząsarce, próbki wirowano 20 minut w temperaturze  $4^{\circ}\text{C}$  przy obrotach  $2000 \times g$ . Po uzyskaniu klarownego supernatantu oddzielano go od wytrąconego osadu białek. Pobierano 45  $\mu\text{l}$  supernatantu i dodawano 45  $\mu\text{l}$  odczynnika reakcyjnego aldehydu o-ftalowego (9 mg aldehydu o-ftalowego Sigma i 200  $\mu\text{l}$  etanolu oraz 10  $\mu\text{l}$  merkaptioetanolu w 9 ml buforu boranowego o pH 10.5). Próbki analizowano z użyciem aparatu HPLC Waters wyposażonego w kolumnę z odwróconą fazą RP LC-18-DB (Supelco) o wymiarach 4,8 x 250mm. Fazę ruchomą stanowił bufor fosforanowy o pH 5,9 z dodatkiem acetonitrylu i metanolu w stosunku objętościowym 86:9:5 i prędkością przepływu 1 ml na minutę. Eluent analizowano przy użyciu detektora UV przy długości fali 235nm. Czasy retencji dla argininy i cytruliny wynosiły odpowiednio: 8 oraz 9,3 minuty.

Analiza statystyczna: Wyniki oznaczeń stężenia argininy i cytruliny przedstawiono jako średnie arytmetyczne oraz odchylenie standardowe. W celu określenia istotności między średnimi arytmetycznymi posłużono się testem t Studenta. Wybór tej metody został podyktowany jej przydatnością w weryfikacji hipotez

comprised pregnant women hospitalized in Obstetric-Gynaecological Hospital in Opole in 2004-2005. Clinical material was divided in two groups. Control group consists of 24 healthy pregnant women at third trimester of their pregnancy, in which ultrasonographic examination confirmed fetal eutrophy. Experimental group consisted of 29 pregnant women at third trimester of pregnancy with diagnosed fetal hypotrophy. Criteria for diagnosis of fetal hypotrophy in examined group was statement of negative difference in biometric parameters of 2 or more weeks in comparison to tabular data corresponding to appropriate gestational age. Average ages of women in both groups were almost the same and amounted to 28 years old for examined group and 27 for control group. Pregnant women with diagnosed intrauterine fetal hypotrophy were subjected to therapy with use of L-arginine, which was administered orally at a dose of 1 g 3 times a day. Treatment period was 1 to 5 weeks; average 2 weeks. Before and after the therapy with L-arginine each patient from examined group had ultrasonographic examination of fetal biometry and blood serum arginine and citrulline concentrations determined. 4.5 ml of blood for amino acids determinations was collected from ulnar vein and left till the clot appeared. The blood was collected on empty stomach from pregnant women of control group and examined group before therapeutic procedure introduction. After centrifuging, blood serum separated from the clot was frozen at the temperature of  $-21^{\circ}\text{C}$ . Material prepared in such way was stored frozen to the moment of determinations performance. Concentrations of arginine and citrulline in blood serum were determined by the method of high performance liquid chromatography (HPLC). Serum deproteinization: 30 mg of sulphosalicylic acid (Sigma) was added to 1 ml of blood serum, mixed well on shaker and centrifuged at  $2000 \times g$  for 20 minutes at  $4^{\circ}\text{C}$ . When clear supernatant was obtained, it was separated from precipitate of proteins. 45  $\mu\text{l}$  of supernatant was taken and 45  $\mu\text{l}$  of reagent (9 mg of o-phthalic aldehyde Sigma and 200  $\mu\text{l}$  of ethanol and 10  $\mu\text{l}$  of mercaptoethanol in 9 ml of borate buffer solution of pH of 10.5) was added. Samples were analyzed with use of HPLC apparatus by Waters equipped with column with reverse phase RP LC-18-DB (Supelco) of dimensions 488 x 250mm. Mobile phase was phosphate buffer solution of pH of 5.9 with addition of acetonitrile and methanol in the volumetric ratio of 86:9:5 and flow 1 ml per minute. Eluent was analyzed with use of UV detector at wavelength equal to 235nm. Retention times for arginine and citrulline amounted to 8 and 9.3 minutes, respectively.

Statistical analysis: Results of determination of arginine and citrulline concentrations were presented as arithmetic mean and standard deviation. The t-Student test was used to evaluate statistical importance between arithmetic means. That method was chosen because of its utility for verification of hypotheses concerning

dotyczących wartości średnich dla małej grupy badanej tj. poniżej 30 przypadków oraz o normalnym rozkładzie zmiennych. Jako poziom istotności przyjęto  $p < 0.05$ .

## WYNIKI

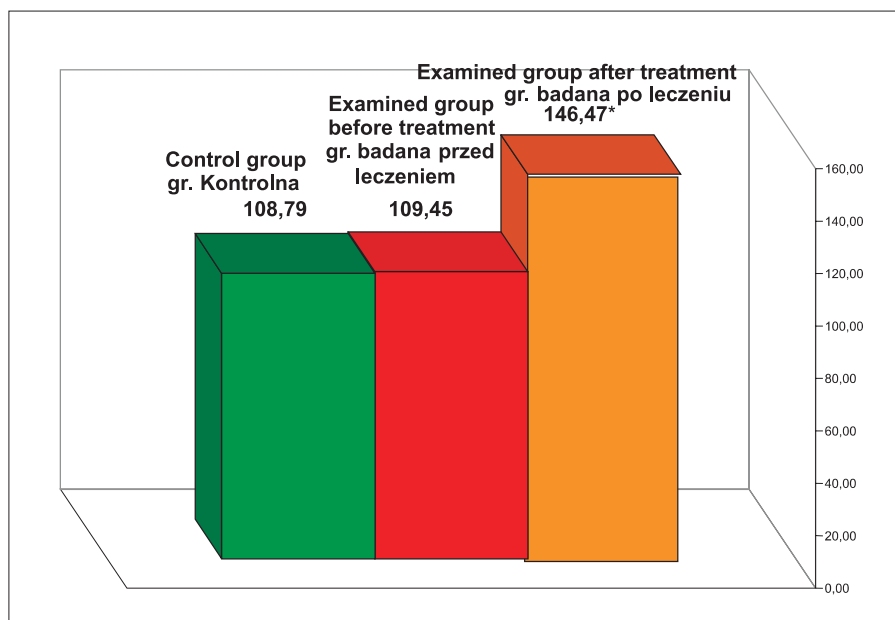
Średnie stężenie argininy w surowicy krwi w grupie badanej przed rozpoczęciem suplementacji L-argininą wynosiło  $109.45 \mu\text{mol/l}$  ( $42.39 - 176.51$ ). Wynik ten okazał się bardzo zbliżony do średniego stężenia tego aminokwasu w grupie kontrolnej, który wyniósł  $108.79 \mu\text{mol/l}$ . Powtórzono oznaczenie argininy w grupie badanej po zakończonym leczeniu za pomocą chlorowodoru L-argininy. Stwierdzono wówczas, że średnie stężenie tego aminokwasu wzrosło do  $146.47 \mu\text{mol/l}$  ( $SD \pm 72.94$ ) (ryc.1.). Wzrost ten okazał się statystycznie istotny ( $p < 0.05$ ).

mean values for small experimental group i.e. below 30 cases and of normal variables distribution. Statistical importance was considered at  $p < 0.05$ .

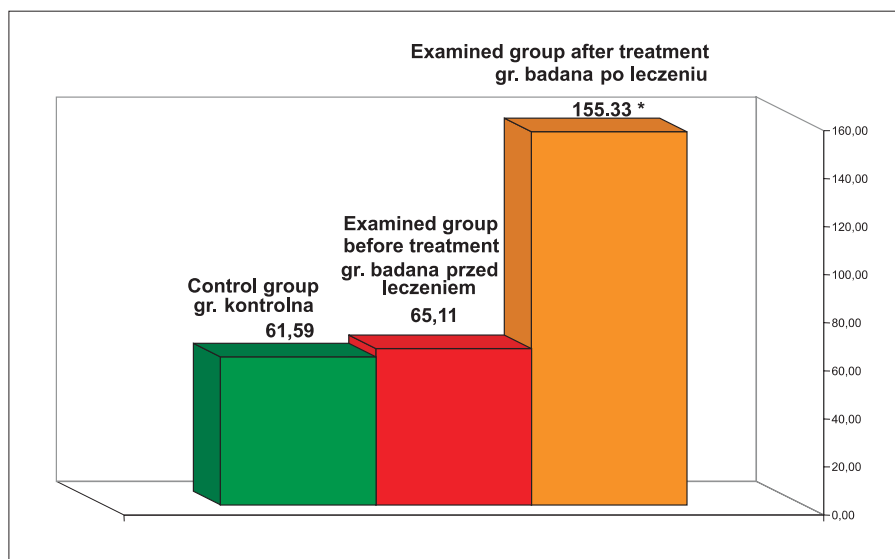
## RESULTS

Average blood serum arginine concentration in examined group before L-arginine supplementation amounted to  $109.45 \mu\text{mol/l}$  ( $42.39 - 176.51$ ). The result was quite similar to average concentration of that amino acid in control group, which amounted to  $108.79 \mu\text{mol/l}$ . Determination of arginine concentration was performed again after treatment with use of L-arginine HCl. Average concentration of that amino acid was stated to increase to  $146.47 \mu\text{mol/l}$  ( $SD \pm 72.94$ ) (fig.1.). The increase appeared to be statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Ryc. 1.** Średnie stężenie argininy ( $\mu\text{mol/l}$ ) w grupie kontrolnej oraz w grupie badanej przed i po leczeniu L-argininą (\*- różnica statystycznie istotna  $p < 0.05$ ).  
**Fig. 1.** Average arginine concentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) in control group and in examined group before and after treatment with L-arginine (\*- statistically significant difference  $p < 0.05$ ).



**Ryc.2.** Średnie stężenie cytruliny ( $\mu\text{mol/l}$ ) w porównywanych grupach (\*- różnica statystycznie istotna  $p < 0.001$ )  
**Fig. 2.** Average citrulline concentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) in compared groups (\*- statistically significant difference  $p < 0.001$ )



Średnie stężenie cytruliny w grupie badanej przed podaniem L-argininy wynosiło  $65.11 \mu\text{mol/l}$  ( $\pm 37.97$ ) i było nieistotnie statystycznie wyższe od średniego stężenia w grupie kontrolnej  $61.59$  ( $\pm 33.21$ )  $\mu\text{mol/l}$ . Po ponownym oznaczeniu cytruliny po okresie leczenia L-argininą stwierdzono statystycznie istotne wyższe jej stężenie od poziomu przed leczeniem i od stężenia w grupie kontrolnej:  $155.33 \mu\text{mol/l}$  (ryc.2.).

## DYSKUSJA

Po doniesieniach na temat korzyści płynących ze stosowania L-argininy w hypotrofii płodu można było się spodziewać, że stężenie argininy i cytruliny we krwi ciężarnych kobiet z tym powikłaniem ciąży będzie niższe od stężenia obserwowanego u ciężarnych zdrowych.

W istocie okazało się, że zarówno stężenie argininy, jak i cytruliny, która odzwierciedla produkcję tlenu azotu w organizmie, kształtuje się na poziomie zbliżonym do stężeń tych aminokwasów u ciężarnych zdrowych. Porównując wyniki oznaczeń stężenia argininy w grupie kobiet ciężarnych zdrowych z wynikami uzyskanymi przez innych autorów stwierdzono, że są one podobne jeśli była zastosowana ta sama metoda oznaczeń [9,10]. Stosowana przez innych badaczy metoda chromatografii jonowymiennej dawała zdecydowanie niższe wartości stężenia argininy niż używana w niniejszej pracy metoda chromatografii wysokociśnieniowej- HPLC [11]. Większe trudności sprawiło porównanie wyników stężenia argininy w przypadkach hypotrofii płodu, ponieważ oznaczenia tego aminokwasu przeprowadzono innymi metodami. W związku z powyższym można było prześledzić jedynie zachowanie się argininy w grupie badanej względem grupy kontrolnej.

W niniejszej pracy zanotowano niewielki wzrost wartości argininy w grupie badanej w porównaniu do wartości otrzymanych dla grupy kontrolnej. Podobne obserwacje poczyniła Cetin i wsp. [12] z tym, że zaobserwowany w jej badaniu wzrost stężenia był istotny statystycznie. Inny zespół badaczy zanotował nieistotny statystycznie spadek stężenia argininy w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej [11].

Metoda HPLC została użyta do oznaczeń stężenia argininy i cytruliny w innej niż hypotrofia patologii ciąży, a mianowicie w nadciśnieniu indukowanym ciążą oraz w łagodnej i ostrej preeklampsji. W tym wypadku uzyskano nieznacznie niższe wartości poziomu argininy w grupie badanej niż w grupie kontrolnej ciężarnych zdrowych. W powyższej pracy Benedetto i wsp. zanotowali statystycznie nieistotnie niższe stężenie cytruliny w grupie badanej niż w grupie kontrolnej, a w powikłanym nadciśnieniu – nieznacznie wyższe w stosunku do grupy kontrolnej. W cytowanej pracy stężenie cytruliny w grupie ciężarnych zdrowych było zdecydowanie niższe od wartości uzyskanych przez nas [9]. Niestety w piśmiennictwie nie znalaziono prac badawczych poświęconych oznaczeniom stę-

Average citrulline concentration in examined group before L-arginine administration amounted to  $65.11 \mu\text{mol/l}$  ( $\pm 37.97$ ) and it was insignificantly statistically higher than average concentration in control group  $61.59$  ( $\pm 33.21$ )  $\mu\text{mol/l}$ . While citrulline was determined after period of treatment with L-arginine, its statistically significant higher concentration in comparison with the level obtained before treatment and its concentration in control group was stated:  $155.33 \mu\text{mol/l}$  (fig.2.).

## DISCUSSION

After reports concerning benefits of L-arginine use in treatment of fetal hypotrophy it could be expected that arginine and citrulline concentrations in blood of pregnant women with that pregnancy complication will be lower than appropriate concentrations observed in healthy pregnant.

In fact, it turned out that concentrations of arginine as well as citrulline, which reflects the formation of nitric oxide in organism, were on the levels similar to concentrations of these amino acids in healthy pregnant. Comparing results of arginine concentration in group of healthy pregnant women with the results obtained by other authors it was stated that they were similar if the same determination method was used [9,10]. Ion exchange chromatography used by some authors resulted in significantly lower values of arginine concentration than the method of HPLC used in our study [11]. More problematic was comparison of arginine concentrations in cases of fetal hypotrophy because the determinations were performed with use of other methods. In connection with above, only relation of arginine concentration in examined group vs. control group was possible to observe.

Our study showed slight increase of arginine concentration in examined group in comparison with values obtained for control group. Similar observations were noted by Cetin et al. [12], with the difference that the concentration increase noted in her study was statistically significant. Group of other researchers stated statistically insignificant decrease of arginine concentration in examined group versus control one [11].

HPLC method was used to determine arginine and citrulline concentrations in other pregnancy complications than fetal hypotrophy viz. hypertension induced by pregnancy and mild and acute preeclampsia. In that cases only slightly lower values of arginine levels were obtained in examined group than in control group of healthy pregnant women. In cited paper Benedetto et al. noted statistically insignificant lower citrulline concentration in examined group than in control group, and in complicated hypertension – insignificantly higher in comparison with control group. In this paper citrulline concentration in group of healthy pregnant women was significantly lower than values obtained in our study [9]. Unfortunately, no experimental papers concerning determination of citrulline concentrations in fetal hypotrophy were found in literature. As it could be expect-



żenia cytruliny w hypotrofii płodu. Jak można było się spodziewać podanie L-argininy kobietom ciężarnym

z wewnątrzmaciczną hypotrofią spowodowało znamienne statystycznie wzrost stężeń zarówno argininy, jak i cytruliny. W piśmiennictwie znaleziono tylko jedno doniesienie dotyczące stężenia obu aminokwasów we krwi ciężarnych po leczeniu L-argininą, jednak nie dotyczące hypotrofii wewnątrzmacicznej, a preeklampsji. W badaniu tym stwierdzono nieistotny statystycznie wzrost argininy i znamienne wzrost stężenia cytruliny [13]. Wzrost stężenia cytruliny po leczeniu świadczy, że podana egzogenna L-arginina została przekształcona w organizmie do tlenku azotu i cytruliny, a więc terapia przebiegała zgodnie z założeniem. Powstający z argininy tlenek azotu wywiera wiele korzystnych zmian, co sprawia że suplementacja L-argininą może być skuteczną metodą leczenia hypotrofii płodu [14]. Niniejsza praca daje też przybliżony wgląd w losy egzogennej argininy w organizmie ciężarnych kobiet z hypotrofią wewnątrzmaciczną.

## WNIOSKI

1. Stężenie argininy i cytruliny w surowicy krwi kobiet ciężarnych z hypotrofią płodową przed leczeniem L-argininą kształtuje się na poziomie charakterystycznym dla ciężarnych zdrowych z eutrofią płodu.
2. Po leczeniu L-argininą nastąpił istotny wzrost stężenia argininy i cytruliny w surowicy krwi w porównaniu do ich wartości przed leczeniem i w porównaniu do grupy kontrolnej.

ed, L-arginine administration to pregnant women with intrauterine hypotrophy caused statistically significant increase in concentrations of arginine as well as citrulline. Only one paper concerning concentration of the both amino acids in blood of pregnant women treated with L-arginine was found in literature; however, the paper was not about intrauterine hypotrophy but about preeclampsia. In this study insignificant increase of arginine concentration and significant increase of citrulline level were found [13]. Increase of citrulline concentration showed that administered exogenous L-arginine was converted into nitric oxide and citrulline in the organism, so the therapy took a course in accordance with the assumption. Nitric oxide, formed from arginine, causes many beneficial changes, what confirms that L-arginine supplementetation can be effective method of fetal hypotrophy treatment [14]. Our study also throws light on the fate of exogenous arginine in organism of pregnant women with intrauterine hypotrophy.

## CONCLUSIONS

1. Arginine and citrulline concentrations in blood serum of pregnant women with fetal hypotrophy before L-arginine therapy is on the level characteristic for healthy pregnant with fetal eutrophy.
2. Significant increase in arginine and citrulline blood serum concentrations occurred after treatment with L-arginine in comparison with the amino acids levels before treatment and in control group.

## Piśmiennictwo / References:

1. **Barg E.** Dziecko urodzone z niską masą ciała (poniżej 2500g) - wspólny problem dla położników i pediatrów. *Gin Pol* 2003; 74:1585-1595.
2. **Kamiński K, Sławska H.** Wewnątrzmaciczne zahamowanie wzrastania płodu (IUGR). W: Zdebski Z. (red.) *Problemy współczesnej perinatologii. Studio PIN*, Kraków 2001:194-202.
3. **Kubicki J.** Mikrostruktura łożyska i zachowanie się w nim aktywności wybranych enzymów oddechowych - w ciąży z nie leczonym i leczonym zespołem wewnątrzmacicznej hypotrofii płodowej [rozprawa habilitacyjna]. *Akademia Medyczna we Wrocławiu*. Wrocław 1991.
4. **Lampariello C, De Blasio A, Merenda A et al.** Impiego dell'arginina nel ritardo di crescita asimmetrico (IUGR). *Minerva Ginecol* 1997; 49:577-581.
5. **Neri I, Mazza V, Galassi C, Facchinetti V, F.** Effects of L-arginine on utero-placental circulation in growth-retarded fetuses. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996; 75:208-212.
6. **Karowicz-Bilińska A, Suzin J, Kowalska-Koprek U, Sieroszewski P.** Leczenie hypotrofii wewnątrzmacicznej płodu za pomocą L-argininy- ocena kliniczna i biochemiczna. *Klin Perin Gin* 2004; 40:54-59.
7. **Rytlewski K, Olszanecki R, Zdebski Z.** Badania kliniczne nad znaczeniem egzogennej L-argininy w przebiegu ciąży. W: Zdebski Z. (red.) *Problemy współczesnej perinatologii. Studio PIN*, Kraków 2001:303-323.
8. **Kubicki J, Kowalczyk D, Chowaniec M, Mączka M.** Zastosowanie L-argininy, nośnika NO, w leczeniu zespołu wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu płodu w materiale Szpitala Ginekologiczno-Położniczego w Opolu. *XXVIII Kongres PTG - Bydgoszcz* 2003; supl.1:120.
9. **Benedetto Ch, Marozio L, Neri I et al.** Increased L-Citrulline/L-Arginine plasma ratio in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000; 96:395-399.
10. **Facchinetti F, Valesise H, Neri I et al.** Reduction of serum citrulline levels in women at term toward the day of labor onset. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998;77:174-177.
11. **Young M, Preston M.** Maternal and fetal plasma amino acid concentrations during gestation and retarded fetal growth. *Obstet Gynaec Brit* 1969; 76:333-344.
12. **Cetin I, Corbetta C, Sereni L.** Umbilical amino acid concentrations in normal and growth-retarded fetuses sampled in utero by cordocentesis. *J Obstet Gynecol* 1990;162:253-261.
13. **Mierzyński R, Leszczyńska-Gorzela B.** Ocena stężeń argininy i cytruliny oraz wpływu podawania L-argininy na zachowanie się tych parametrów u pacjentek z ciążą powiklaną preeklampsją, nadciśnieniem w ciąży oraz ciążą niepowiklaną nadciśnieniem. *XXVIII Kongres PTG - Bydgoszcz* 2003; supl.1:158.
14. **Pardej A, Gryboś M, Kubicki J, Guzikowski W.** Arginina i cytrulina a hypotrofia płodu – część I. *Ginekologia i Położnictwo – Medical Project* 2008; 3(9):62-71.