

Received: 2007.09.18
Accepted: 2008.04.15
Published: 2008.05.14

Nowe oblicza arginazy. Część II. Rola w fizjologii i patologii

New insights into arginase. Part II. Role in physiology and pathology

Magdalena Mielczarek-Puta, Alicja Chrzanowska, Wojciech Graboń, Anna Barańczyk-Kuźma

Katedra i Zakład Biochemii Akademii Medycznej w Warszawie

Streszczenie

Arginaza (amidnohydrolaza, EC 3.5.3.1) znana jako ostatni enzymem zachodzącego w wątrobie cyklu mocznikowego, obecna jest także w innych tkankach. Znaczenie biochemiczne i fizjologiczne katalizowanej przez ten enzym reakcji hydrolizy argininy do ornityny i mocznika różni się w zależności od organizmu i tkanki. Poza udziałem w procesie detoksykacji amoniaku, arginaza może uczestniczyć w syntezie poliamin – związków biorących udział w przebiegu wielu procesów metabolicznych, proliny – głównego aminokwasu tkanki łącznej i glutaminianu – aminokwasu uczestniczącego w gospodarce azotowej, przekaźnika w układzie nerwowym, a także substratu do syntezy wielu białek. Fizjologiczna rola arginazy, a także powszechność występowania wskazują na możliwość zaangażowania tego enzymu w patologię różnych chorób. Arginaza konkurując z syntazą tlenu azotu o wspólny substrat, jakim jest L-arginina wydaje się mieć znaczenie w regulacji syntezy tlenu azotu. Ze względu na współzawodnictwo z syntazą tlenu azotu o L-argininę oraz udział w syntezie proliny odgrywa istotną rolę w takich schorzeniach jak udar mózgu, urazy, stany zapalne oraz depresja. Udział arginazy w szlaku syntezy poliamin sprawia, że jest zaangażowana także w proces kancerogenezy.

Słowa kluczowe:

arginaza • izoenzymy • arginina • tlenek azotu

Summary

Arginase (amidnohydrolase, EC 3.5.3.1) is known as the last enzyme in the urea cycle in the liver, but it is also present in extrahepatic tissues. Arginase hydrolyzes L-arginine to L-ornithine and urea and its biochemical and physiological role varies depending on the organism and tissue. Besides its participation in ammonia detoxification, arginase is involved in the synthesis of polyamines, crucial for the proper course of many metabolic processes, proline, the main connective tissues protein, and glutamates, amino acids which take part in nitric metabolism, important in the nervous system and also a substrate for protein synthesis. The competition of arginase with nitric oxide synthase (NOS) for the common substrate L-arginine indicates its participation in the regulation of nitric oxide (NO) synthesis. The physiological role of arginase and its common occurrence indicate its engagement in many pathologies. Due to its competition with NOS for arginine and its participation in proline synthesis, arginase plays an important role in such diseases as cerebral stroke, trauma, inflammation, and depression, whereas its participation in polyamine synthesis indicates arginase's engagement in the development of neoplastic diseases in the human organism.

Key words:

arginase • isoenzymes • arginine • nitric oxide

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11581.pdf**Word count:** 3053**Tables:** –**Figures:** 2**References:** 74**Adres autorki:** prof. dr hab. Anna Barańczyk-Kuźma, Katedra i Zakład Biochemii, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa; e-mail: akuzma@amwaw.edu.pl

Wykaz skrótów: **ADC** – dekarboksylaza argininy; **ARGI** – gen kodujący podjednostkę arginazy AI; **ARGII** – gen kodujący podjednostkę arginazy AII; **CAT** – transporter aminokwasów kationowych (cationic amino acid transporter); **cNOS** – konstytutywna syntaza tlenu azotu (constitutive NOS); **CRH** – hormon kortykotropowy; **DNA-PKcs** – podjednostka katalityczna kinazy zależnej od DNA (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit); **EDRF** – czynnik rozkurczający pochodzący ze śródbłonna (endothelial derived relaxing factor); **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (endothelial NOS); **GABA** – kwas gammaaminomasłowy; **IL** – interleukina; **INF-γ** – interferon gamma; **iNOS** – indukowana syntaza tlenu azotu (inducible NOS); **LPS** – lipopolisacharyd bakteryjny; **MIF** – czynnik hamujący migrację makrofagów (macrophage migration inhibitory factor); **NF-κB** – czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB); **nNOS** – neuronalna syntaza tlenu azotu (neuronal NOS); **NO** – tlenek azotu; **NOHA** – N⁶-hydrokso-L-arginina; **NOS** – syntaza tlenu azotu; **OAT** – aminotransferaza ornitynowa; **ODC** – dekarboksylaza ornitynowa; **PKA** – kinaza białkowa A (protein kinase A); **RNOS** – reaktywne formy tlenu azotu i tlenu (reactive nitrogen and oxygen species); **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu beta (transforming growth factor-β); **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu alfa (tumor necrosis factor α); **VEGF** – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (vascular endothelial growth factor).

1. WSTĘP

Arginaza jest enzymem występującym powszechnie w przyrodzie. Najbardziej znany jest jej udział w cyklu mocznikowym, gdzie uczestniczy w procesie detoksykacji amoniaku. Ponadto jest ona zaangażowana w syntezę wielu ważnych biologicznie związków, takich jak glutaminian, prolina i poliaminy. Arginaza jest metaloenzymem złożonym z trzech podjednostek. U ssaków występuje w postaci dwóch izoenzymów – AI i AII, będących produktami różnych genów. Izoenzymy arginazy różnią się składem podjednostkowym, lokalizacją komórkową (AI jest postacią cytosolową, AII mitochondrialną) oraz właściwościami fizyko-chemicznymi, kinetycznymi i immunologicznymi, a ich ekspresja ulega zmianie w zależności od stanu czynnościowego i potrzeb metabolicznych organizmu.

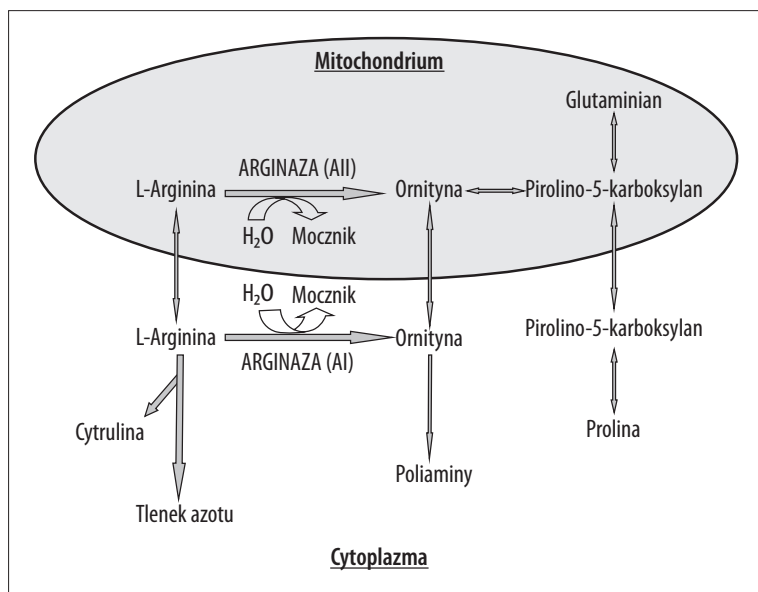
Celem pracy jest omówienie udziału arginazy w różnych procesach fizjologicznych i patologicznych zachodzących w organizmie człowieka.

2. FIZJOLOGICZNA ROLA IZOENZYMOW ARGINAZ

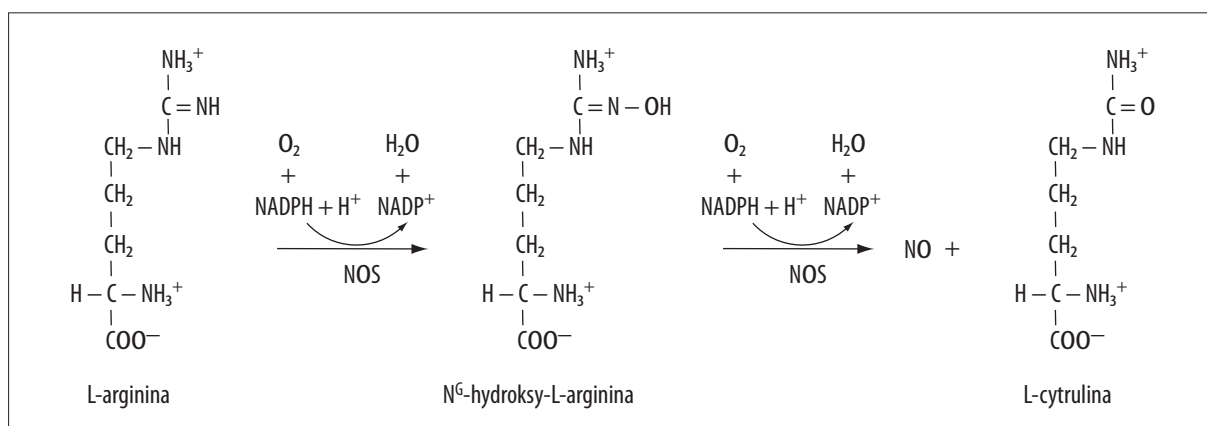
Główną funkcją arginazy jest udział w wytwarzaniu mocznika z toksycznego amoniaku. Arginaza jest ostatnim enzymem zachodzącego w wątrobie cyklu mocznikowego. W tkankach pozawątrobowych rola arginazy polega na hydrolizie endo- i egzogennej L-argininy. W reakcji katalizowanej przez arginazę poza mocznikiem powstaje ornityna, która służy jako prekursor do biosyntezy glutamianu, proliny i poliamin (ryc. 1).

Powstająca w cytosolu, z udziałem arginazy AI ornityna ulega reakcji dekarboksylacji do putrescyny, która jest substratem do syntezy wyższych poliamin – spermidyny i sperminy. Poliaminy są odpowiedzialne za żywotność komórek i prawidłowy przebieg wielu procesów metabolicznych. Jako związki polikationowe oddziałują z DNA, RNA, fosfolipidami i niektórymi białkami, wpływając na replikację i stabilizację DNA, stopień upakowania DNA i RNA, a także przepuszczalność błon [28,50]. Poliaminy odgrywają ważną rolę w kancerogenezie, naprawie uszkodzonych tkanek, regulacji procesu laktacji w gruczołach mlecznych i sygnalizacji międzykomórkowej. Przypuszcza się, że związki te przeciwdziałają starzeniu się komórek i biorą udział w regulacji morfogenezy. Ich niedobór powoduje hamowanie rozmnażania komórek, co stanowi przyczynę wadliwego rozwoju embrionu [20,29,34,42,50].

U mikroorganizmów i roślin prekursorem do syntezy poliamin jest agmatyna, która powstaje w wyniku dekarboksylacji L-argininy [12]. Aktywność dekarboksylazy argininy (ADC) wykazano także w tkankach ssaków m.in. w mózgu, wątrobie, nerkach, jelicie cienkim, nadnerczach i makrofagach [73]. Ze względu na dużą zawartość agmatyny w pokarmie roślinnym i zwierzęcym, aktywność ADC nie wydaje się niezbędna w metabolizmie argininy [12]. Wiadomo, że agmatyna pełni rolę ligandu receptorów α_2 -adrenergicznych oraz imidazolinowych, co może wskazywać na jej rolę w przekazywaniu sygnałów komórkowych [39]. Z udziałem agmatynazy z agmatyny powstaje putrescyna, będąca prekursorem do syntezy poliamin – sperminy i spermidyny. Agmatyna jako intermediat w wyniku syntezy poliamin pełni funkcję regulacyjną. Wykazano, że wpływa ona



Ryc. 1. Główne szlaki metabolizmu L-argininy



Ryc. 2. Reakcja katalizowana przez syntazę tlenu azotu (NOS)

na aktywność syntazy tlenu azotu, a także może być inhibitorem dekarboksylazy ornityny (ODC), przez co hamuje proliferację i różnicowanie komórek [73]. W ostatnich latach coraz więcej uwagi zwraca się na udział agmatyny w procesach nowotworzenia.

Kolejną ważną funkcją arginazy w komórkach pozawątrobowych jest jej udział w biosyntezie glutaminianu i proliny. W reakcji katalizowanej przez izoformę mitochondrialną (arginaza AII) powstaje ornityna, która w mitochondrium, z udziałem aminotransferazy ornitynowej (OAT) ulega transaminacji do pirolino-5-karboksylanu. Pirolino-5-karboksylan w reakcji redukcji tworzy glutaminian – aminokwas uczestniczący w wielu przemianach biochemicznych w organizmie człowieka. W wyniku przekształcenia go do α -ketoglutaranu staje się metabolitem łączącym przemiany białkowe z energetycznymi, a jego amid - glutamina bierze udział w gospodarce azotowej organizmu. W mózgu glutaminian działa jako neuroprzekaznik pobudzający, natomiast w wyniku dekarboksylacji jest przekształcany do kwasu γ -aminomasłowego (GABA) – neuroprzekaznika o działaniu hamującym. Ponadto, jest substratem do syntezy białek, glutationu i N-acetylgłuta-

minianu – efektora allosterycznego syntetazy karbamoilo-fosforanowej [11,59,69].

W cytosolu z pirolino-5-karboksylanu powstaje prolina – składnik wielu białek. Prolina oprócz swojej pochodnej – hydroksyproliny jest ważnym aminokwasem kolagenu – głównego białka tkanki łącznej. Dlatego prolina odgrywa istotną rolę w procesie gojenia ran [68].

3. TLENEK AZOTU

Poza dostarczaniem ornityny i agmatyny, L-arginina służy jako substrat do syntezy tlenu azotu. Arginaza konkurując z syntazą tlenu azotu (NOS) o L-argininę, wydaje się odgrywać ważną rolę w regulacji tego procesu.

W dwustopniowej reakcji katalizowanej przez NOS powstaje intermediat N^G -hydrokso-L-arginina (NOHA), tlenek azotu (NO), L-cytrulina oraz woda (ryc. 2).

Znane są trzy izoformy syntazy tlenu azotu, kodowane przez trzy różne geny: śródbłonkowa (endothelial – eNOS lub NOS-3), neuronalna (nNOS lub NOS-1) i indukowana

(iNOS lub NOS-2). Poszczególne izoformy NOS różnią się między sobą masą cząsteczkową, umiejscowieniem w komórce, strukturą oraz kinetyką reakcji. Do swej pełnej aktywności syntazy NO wymagają licznych kofaktorów, takich jak: NADPH₂, FMN, FAD, tetrahydrobiopteryna, tlen cząsteczkowy oraz hem. Ze względu na stałą ekspresję izoform typu 1 i 3, izoenzymy te często określa się wspólną nazwą cNOS (constitutive NOS). Konstitutywne izoformy NOS są odpowiedzialne za krótkotrwałe wytwarzanie niewielkich ilości tlenu azotu, natomiast iNOS, która ulega ekspresji w odpowiedzi na różne czynniki prozapalne odpowiada za długotrwałe wytwarzanie większych ilości NO. Do związków potencjalnie indukujących iNOS należą cytokiny: INF- γ , IL-1, IL-6, czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- α), czynnik hamujący migrację makrofagów (MIF) oraz mikroorganizmy i ich produkty, np. lipopolisacharyd bakteryjny (LPS). Do silnych inhibitorów iNOS zalicza się transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β), IL-4, -8 i -10 [33,35,40,44,64].

Tlenek azotu opisany pierwotnie jako „czynnik rozkurczający pochodzący ze śródbłonna” (EDRF – endothelial derived relaxing factor) pełni wiele istotnych funkcji w podstawowych procesach życiowych organizmu. Ta najmniejsza biologicznie aktywna cząsteczka reguluje ciśnienie krwi, rozszerza drogi oddechowe, znosi aktywność toksycznego jonu ponadtlenkowego, a hamując przyleganie, aktywację i agregację płytek krwi wykazuje działanie przeciwzakrzepowe i przeciwniażdżycowe. W mózgu i obwodowym układzie autonomicznym NO pełni rolę neuroprzebieżnika, który uczestniczy w kontroli procesów pamięci i uczenia się, a także reguluje wydzielanie hormonów przysadki mózgowej [30,60,68]. W warunkach fizjologicznych NO działa jako wewnątrzkomórkowa cząsteczka sygnałowa, a w podwyższonych stężeniach funkcjonuje jako autokryna i parakryna cząsteczka regulująca odpowiedź immunologiczną [35,58].

Jak wynika z piśmiennictwa, jednym z czynników regulujących poziom tlenu azotu w komórkach może być arginaza. Autorzy prac eksperymentalnych donoszą o wspólnej indukcji syntazy iNOS i obu izoenzymów arginazy w różnych typach komórek. Tłumaczą oni, że arginaza AI i AII zużywając wspólny substrat, jakim jest L-arginina chroni komórkę przed nadmiernym wytwarzaniem NO, który w zbyt dużych stężeniach wykazuje działanie cytotoksyczne. I tak, LPS i INF- γ indukują ekspresję arginazy i iNOS w makrofagach, aby uniknąć nadekspresji iNOS i cytotoksycznego działania tlenu azotu [2,9,14,24,43,45,65,73].

Na podstawie wartości K_m (80 μ M dla AI i 22 μ M dla iNOS) i lokalizacji cytosolowej obu enzymów można przypuszczać, że to właśnie arginaza AI jest izoformą regulującą stężenie NO w komórce [18,22]. Współzawodnictwo pomiędzy arginazą AII i iNOS wydaje się mało prawdopodobne ze względu na znacznie większe powinowactwo syntazy tlenu azotu do argininy oraz różne wewnątrzkomórkowe umiejscowienie obu enzymów.

4. ROLA ARGINAZY W PATOLOGII

4.1. Arginaza w chorobach nienowotworowych

Rola fizjologiczna arginazy oraz powszechność jej występowania wskazują na możliwość zaangażowania enzymu

w patologię różnych chorób. Istnieje wiele danych literaturowych na temat mutacji w genie arginazy AI – są to przede wszystkim mutacje punktowe, nonsensowne oraz przesunięcia ramki odczytu. W następstwie tych zmian może dojść do częściowej lub całkowitej utraty aktywności enzymatycznej. Brak aktywności arginazy AI prowadzi do zaburzeń cyklu mocznikowego, które objawiają się wzrostem poziomu argininy we krwi (hiperargininemia) i płynie mózgowo-rdzeniowym, zahamowaniem wzrostu oraz zaburzeniami umysłowymi. Liczne badania wykazały, że zarówno u ludzi jak i u zwierząt z deficytem arginazy AI, następuje indukcja izoformy AII, która kompensuje jej brak poprzez wpływ na komórkowe stężenie argininy. W przypadku pacjentów z hiperargininemią leczenie polega na stosowaniu diety ubogiej w białko [12,17,25,26].

Uważa się, że arginaza może pełnić szczególną funkcję ochronną w chorobach neurologicznych, ponieważ zapobiega apoptozie komórek nerwowych przez ograniczenie dostępności L-argininy dla syntazy tlenu azotu. Podczas ogniskowego niedotlenienia mózgu dochodzi do nadmiernego uwalniania glutaminianu, który działając na receptory NMDA (N-metylo-D-asparaginianowe) powoduje napływ jonów wapnia do wnętrza komórki i w rezultacie zwiększoną syntezę NO z udziałem nNOS. W warunkach długotrwałego niedokrwienia mózgu, tlenek azotu jest syntetyzowany z udziałem iNOS aktywowanej przez uwalniane cytokiny. Tlenek azotu dostaje się do synaps zwiększając uwalnianie glutaminianu, co prowadzi do martwicy lub apoptozy komórek nerwowych w obszarze niedokrwienia. Badania przeprowadzone *in vitro* na aktywowanych przez cytokiny astrocytach wskazują, że zmniejszenie stężenia argininy hamuje syntezę iNOS na poziomie translacji przez ujemną regulację czynnika inicjacji (eIF2 α) [36,64]. Tak więc, ograniczenie dostępności argininy może korzystnie wpływać na zmniejszenie rozległości udaru.

Wzrost ekspresji obu izoform arginaz oraz indukcję przenośnika argininy CAT2 (przenośnik aminokwasów zasadowych) zaobserwowano u myszy cierpiących na astmę [13]. Zimmerman i wsp. [74] dokonali analizy mRNA pochodzącego z tkanek płucnych myszy z astmą eksperymentalną i wykazali znacznie podwyższoną ekspresję 291 różnych genów. Szczególnie silnej indukcji (20–40-krotnej) uległ gen arginazy AI, co w następstwie doprowadziło do zwiększonej syntezy mocznika i dużego stężenia putrescyny – substratu do syntezy innych poliamin. Indukcja genu izoformy AII wzrosła tylko trzykrotnie. Badania prowadzone w biopsjach z płuc osób chorych na astmę oskrzelową wskazują na zwiększoną ekspresję arginazy, umiejscowionej w makrofagach i komórkach nabłonkowych wyścielających drogi oddechowe. Wzrost ekspresji arginazy zachodzi pod wpływem prozapalnych cytokin m.in. IL-4 i IL-13, co prowadzi do wzrostu syntezy ornityny, będącej prekursorem poliamin oraz prolina. Poliaminy mogą nasilać skurcz oskrzeli, a także brać udział w interakcji mastocytu z alergenem. Z kolei prolina zostaje wykorzystana do syntezy kolagenu, który jest gromadzony pod nabłonkiem dróg oddechowych, co prowadzi do przebudowy mięszu płucnego [38].

Autorzy wielu prac donoszą, że aktywność i ekspresja arginazy wzrasta także w urazach [6,47,48]. Wzrost ekspresji i aktywności arginazy AI jest związany z pourazowym

uwolnieniem katecholamin, cytokin i czynnika TGF- β . Procesowi temu towarzyszy również spadek ilości argininy i cytruliny oraz obniżenie stężenia końcowych metabolitów tlenu azotu, pomimo wzrostu ekspresji iNOS. Dodatkowo wykazano szkodliwe działanie NO podczas wstrząsu pourazowego. Zwiększenie aktywności arginazy w urazach może więc mieć charakter protekcyjny, przez obniżenie dostępności - L-argininy [47]. Poza tym, wzrost aktywności arginazy, a tym samym L-ornityny niezbędnej do syntezy poliamin i proliny, może mieć duże znaczenie w procesie gojenia ran. Dużą aktywność arginazy zaobserwowano również w makrofagach obecnych w miejscu uszkodzeń tkanek, co wskazuje na potencjalną rolę arginazy w procesach regeneracyjnych [47,68].

Ponadto, badania własne (niepublikowane) wykazały wzrost aktywności arginazy w stanach zapalnych. Duża aktywność oraz wzrost ekspresji obu izoform arginazy w przebiegu wielu chorób może być wynikiem działania na nie określonych mediatorów stanu zapalnego. Ekspresja genów arginazy AI i AII jest indukowana w wyniku dobrze poznanej aktywacji kinazy białkowej A (PKA), wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP i fosforylacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B modulującego ekspresję genów arginazy AI i AII. Stwierdzono, że IL-4 i IL-13 indukują ekspresję arginazy AI niezależnie od cAMP w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Ekspresja izoformy AII może być także indukowana przez cAMP oraz przez IL-10. Przyczyną wzrostu aktywności obu izoform arginazy mogą być więc cytokiny (IL-4, -10, 13, TNF- α , TGF- β) uwalniane przez limfocyty T i makrofagi w odpowiedzi na rozwijający się proces chorobowy [5,32,62,70,71].

Podwyższone stężenie arginazy i dodatnią korelację aktywności enzymu z zaawansowaniem choroby stwierdzono w surowicy pacjentów cierpiących na depresję. U tych pacjentów wykazano nadmierną sekrecję hormonu kortykotropowego (CRH) z podwzgórzowych jąder przykomorowych i wzrost stężenia CRH w płynie mózgowo-rdzeniowym. Indukcja CRH nie tylko stymuluje oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową, ale jest także przyczyną przynajmniej części objawów depresji. Tlenek azotu powstający w mózgu w reakcji katalizowanej przez syntazę tlenu azotu hamuje uwalnianie CRH z podwzgórza. Obniżenie ekspresji NOS w podwzgórzu u pacjentów z depresją, a tym samym ilości NO, prawdopodobnie prowadzi do indukcji CRH. Jak wiadomo, arginaza i NOS konkurują o wspólny substrat jakim jest L-arginina. Wzrost aktywności arginazy w surowicy pacjentów cierpiących na depresję może prowadzić do zmniejszonego wytwarzania NO, co z kolei może powodować osłabienie hamującego działania na uwalnianie CRH w mózgu. Ponadto, wzrost aktywności enzymu w surowicy może odzwierciedlać jego indukcję w ośrodkowym układzie nerwowym [7,16,19,49,57].

Duża aktywność arginazy może również wpływać na procesy odpowiedzialne za zaburzenia seksualne u mężczyzn i u kobiet. Podstawowym związkiem biorącym udział w procesie erekcji jest tlenek azotu i to zarówno jako przekaznik sygnałów pomiędzy komórkami nerwowymi, jak i czynnik powodujący gwałtowny rozkurcz mięśni gładkich penisa, co pozwala na wypełnienie krwią naczyń krwionośnych umiejscowionych w ciałach jamistych. Arginaza, przez hamowanie reakcji powstawania tlenu azotu, może wpływać na zabu-

żenia krążenia krwi. Również zaburzenia seksualne u kobiet związane są ze zmianami w przepływie krwi przez narządy rodne, dlatego też trwają intensywne prace nad zastosowaniem silnych inhibitorów arginazy w ich leczeniu [8,21].

4.2. Arginaza w chorobach nowotworowych

Liczne prace badawcze wskazują na przydatność oznaczania arginazy w chorobach nowotworowych. Zainteresowanie rolą arginazy w chorobach nowotworowych może tłumaczyć to, że enzym ten katalizuje reakcje hydrolizy argininy do mocznika i ornityny, uczestniczącej w szlaku syntezy poliamin, związków niezbędnych w regulacji syntezy kwasów nukleinowych. W wielu tkankach charakteryzujących się zwiększonym zapotrzebowaniem na poliaminy, takich jak tkanki nowotworowe, aktywność arginazy lub dekarboksylazy ornitynowej wzrasta stosownie do potrzeb metabolicznych organizmu [3,34,61,67]. Charakter zmian aktywności arginazy zależy często od cech nowotworu oraz rodzaju tkanki, z której się wywodzi. Wykazano, że aktywność tego enzymu jest większa u pacjentek z rakiem sutka, niż w surowicy zdrowych dawców krwi, a ponowny wzrost może być przyczyną pojawiających się przerzutów lub niecałkowitego usunięcia zmiany pierwotnej. Ponadto, wzrost aktywności arginazy u pacjentek z łagodnymi nowotworami sutka może być sygnałem rozwijającego się raka [52,66]. Niezależne badania wykazały korelację pomiędzy stanem zaawansowania raka piersi a podwyższoną aktywnością arginazy w surowicy krwi [51].

Badania tempa wzrostu linii komórkowych raka gruczołu sutkowego (MDA-MB-468) w zależności od aktywności arginazy i syntazy tlenu azotu nie wykazały korelacji pomiędzy aktywnością tych enzymów, jak również pomiędzy poziomem tlenu azotu a tempem wzrostu linii komórkowych. Komórki, w których aktywność arginazy była duża charakteryzowały się wyższym naturalnym wskaźnikiem wzrostu, w porównaniu z komórkami o małej aktywności enzymu. Dodany do hodowli komórkowej NOHA (inhibitor arginazy) hamował wzrost komórek nowotworowych o dużej aktywności enzymu na skutek obniżenia poziomu poliamin. Ponadto, w ciągu 48 godzin dochodziło do apoptozy. Natomiast obecność w hodowli komórkowej ornityny prowadziła do ponownego wzrostu komórek, co potwierdza istotny udział arginazy w procesie proliferacji [63]. Podobne wyniki uzyskano badając linie komórkowe raka jelita grubego (Caco-2) [10]. Badania linii komórkowych LnCAP raka prostaty wykazały, że w przypadku tego nowotworu, wysoko zróżnicowane linie komórkowe odznaczały się dużą aktywnością arginazy, podczas gdy w liniach komórkowych nisko zróżnicowanego raka aktywność enzymu była mniejsza [12].

Wyniki badań *in vivo* wskazują na wzrost aktywności arginazy i poziomu ornityny w tkankach pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc oraz w raku podstawonokomórkowym i płaskonabłonkowym skóry [23,67]. Nie wykazano jednak istotnych różnic zarówno w aktywności arginazy jak i poziomu ornityny w obydwu badanych nowotworach skóry. W związku z tym uważa się, że oznaczenie obu parametrów może być stosowane jedynie jako test diagnostyczny, a nie różnicujący typ nowotworu [23].

Aktywność arginazy wzrasta także w surowicy chorych z rakiem prostaty i żołądka, a na podstawie badań własnych

stwierdzono podwyższoną aktywność enzymu w surowicy pacjentów z rakiem trzustki i wątroby [15,28,32,56,73]. Ponadto wykazaliśmy, że aktywność arginazy w guzach i surowicy pacjentów z rakiem jelita grubego i pacjentów z przerzutami raka jelita grubego do wątroby jest znacznie większa w porównaniu z niezmienną nowotworowo tkanką jelita i surowicą kontrolną [4,53,54]. Dane te są zgodne z wynikami uzyskanymi przez Leu S.Y. i wsp. [37], którzy stwierdzili, że aktywność arginazy w guzach jelita grubego jest dwukrotnie większa niż w zdrowej tkance jelita. Oznaczenie arginazy w surowicy pacjentów wydaje się również przydatne w ocenie zakresu wykonanej resekcji chirurgicznej. Po resekcji guza (guzów) aktywność arginazy w surowicy chorych z rakiem jelita grubego i chorych z przerzutami tego nowotworu do wątroby spada, z wyjątkiem pacjentów z guzami nieresekcyjnymi lub z rozsiałym procesem nowotworowym, u których nie doszło do doszczętnego usunięcia zmiany nowotworowej. Wyniki 3-letnich obserwacji aktywności arginazy w surowicy pacjentów operowanych z powodu raka jelita grubego i/lub przerzutów do wątroby wskazują, że utrzymująca się duża aktywność enzymu wiąże się z większym ryzykiem nawrotu choroby w krótszym czasie po operacji. Uzyskane przez nas wyniki wskazują na możliwość zastosowania oznaczania aktywności arginazy jako testu pomocnego w diagnostyce pacjentów z ww. nowotworem [53,54,56]. Test arginazowy wykazuje większą czułość i swoistość niż markery nowotworowe powszechnie stosowane w diagnostyce raka jelita grubego i jego przerzutów do wątroby, takie jak CEA i Ca19-9 [4,41].

5. ROLA TLENKU AZOTU W CHOROBYCH NOWOTWOROWYCH

Udział NO w procesie nowotworzenia jest bardzo złożony. Anty- lub prokancerogenne działanie tlenu azotu zależy w dużym stopniu od rodzaju komórki, w jakiej jest wytwarzany, a także od jego lokalnego stężenia. Wykazano, że NO indukuje ekspresję DNA-PKcs (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit), jednego z głównych enzymów naprawy DNA, a także ekspresję genu p53, którego białko uruchamia proces apoptozy. Ponadto NO, uwalniany w dużych stężeniach z makrofagów i śródbłonka naczyń, działa cytotoksycznie na tkanki nowotworowe. Tlenek azotu wytwarzany przez komórki gospodarza może blokować lub osłabiać adhezję komórek nowotworowych do ścian naczyń krwionośnych [36,59]. Mortensen i wsp. [46] wykazali, że wysoka ekspresja śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS) w okołonowotworowych mikronaczyńkach daje większą szansę przeżycia pacjentom z rakiem jelita grubego. Dane te potwierdzają hipotezę, że NO wytwarzany w mikronaczyńkach tkanki okalającej guz chroni przed powstawaniem przerzutów.

Jednak ta najmniejsza biologicznie czynna cząsteczka, wykazuje działanie prokancerogenne. Długotrwałe wytwarzanie NO może prowadzić do reakcji tlenu azotu ze składni-

kami komórki i powstawania wolnych rodników azotowych. W reakcji z tlenem cząsteczkowym NO tworzy wolny rodnik – ditlenek azotu (NO_2), a w reakcji z anionorodnikiem ponadtlenkowym (O_2^-) lub nadtlenkiem wodoru (H_2O_2) – nadtlenoazotyn (ONOO^-). Uszkodzenia spowodowane przez reaktywne formy tlenu azotu i tlenu (reactive nitrogen and oxygen species – RNOS) mogą być przyczyną transformacji nowotworowej. Ponadto, NO wytwarzany w komórkach nowotworowych w stężeniu wyższym od fizjologicznego może promować rozwój guza nasilając proces angiogenezy i hamując adhezję i naciek limfocytów. W tym stężeniu, tlenek azotu hamuje apoptozę komórek, inaktywując ekspresję genu supresorowego p53 oraz nasila ekspresję czynnika VEGF, jednocześnie hamując angiostatynę – inhibitor angiogenezy. Poza tym indukuje ekspresję genu IL-8 pobudzającego angiogenezę, zwiększa przepuszczalność naczyń ułatwiając dostarczenie komórkom guza substancji odżywczych, a także aktywuje MMP (matrix metalloproteinases) – enzymy uczestniczące w niszczeniu ścian naczyń krwionośnych [50]. Wydaje się, że w stężeniach wyższych od fizjologicznych tlenek azotu sprzyja wzrostowi komórek nowotworowych, natomiast jego zbyt duże stężenie jest cytotoksyczne nie tylko dla samego guza, ale również zdrowych tkanek [35,58].

Jednym z czynników regulujących stężenie tlenu azotu w komórce może być cytosolowa izoforma arginazy (arginaza AI). Dlatego podwyższona ekspresja iNOS obserwowana w wielu typach nowotworów nie musi prowadzić do wzrostu stężenia NO, gdyż jednoczesna nadekspresja izoenzymu AI zwiększa zużycie argininy będącej wspólnym substratem [1]. Wzrost arginazy AI w komórkach nowotworowych może prowadzić do wzrostu stężenia poliamin i obniżenie poziomu NO znosząc jego cytotoksyczne działanie, co sprzyja rozwojowi guza.

PODSUMOWANIE

Jak wynika z przedstawionego przeglądu piśmiennictwa oraz badań własnych, rola arginazy nie polega jedynie na udziale w procesie detoksykacji amoniaku w wątrobie. Obejmuje również syntezę poliamin – związków odpowiedzialnych za regulację wielu procesów metabolicznych, w tym podziałów komórkowych, syntezę proliny – aminokwasu niezbędnego do budowy tkanki łącznej oraz syntezę glutaminianu uczestniczącego w wielu przemianach białkowych oraz regulacji neurotransmisji. Utrata aktywności arginazy prowadzi nie tylko do zaburzeń cyklu mocznikowego, ale także do obniżonej syntezy ważnych biologicznie związków. Podwyższona aktywność tego enzymu w urazach, depresji, astmie, stanach zapalnych i chorobach nowotworowych (rak gruczołu piersiowego, skóry, płuc, trzustki, wątroby i jelita grubego) wskazuje na jego ważną rolę w różnych procesach chorobowych. Dlatego poznanie wszystkich funkcji fizjologicznych arginazy, może mieć w przyszłości istotne znaczenie w diagnostyce i terapii wielu chorób.

PIŚMIENNICTWO

[1] Ambis S., Merriam W.G., Bennett W.P., Felley-Bosco E., Ogunfusika M.O., Oser S.M., Klein S., Shields P.G., Billiar T.R., Harris C.C.: Frequent nitric oxide synthase-2 expression in human colon adenomas: implication for tumor angiogenesis and colon cancer progression. *Cancer Res.*, 1998; 58: 334–341

[2] Ash D.E.: Structure and function of arginases. *J. Nutr.*, 2004; 134: 2760S–2764S

[3] Auvinen M., Paasinen A., Andersson L.C., Hölttä E.: Ornithine decarboxylase is critical for cell transformation. *Nature*, 1992; 360: 355–358

- [4] Barańczyk-Kuźma A., Porembka Z.: Arginase as a malignant tumor marker. *Recent Res. Devel. Life Sci.*, 2003; 1: 131–141
- [5] Barksdale A.R., Bernard A.C., Maley M.E., Gellin G.L., Kearney P.A., Boulanger B.R., Tsuei B.J., Ochoa J.B.: Regulation of arginase expression by T-helper II cytokines and isoproterenol. *Surgery*, 2004; 135: 527–535
- [6] Bernard A.C., Mistry S.K., Morris S.M. Jr., O'Brien W.E., Tsuei B.J., Maley M.E., Shirley L.A., Kearney P.A., Boulanger B.R., Ochoa J.B.: Alterations in arginine metabolic enzymes in trauma. *Shock*, 2001; 15: 215–219
- [7] Bernstein H.G., Stanarius A., Baumann B., Henning H., Krell D., Danos P., Falkai P., Bogerts B.: Nitric oxide synthase-containing neurons in the human hypothalamus: reduced number of immunoreactive cells in the paraventricular nucleus of depressive patients and schizophrenics. *Neuroscience*, 1998; 83: 867–875
- [8] Bivalacqua T.J., Hellstrom W.J., Kadowitz P.J., Champion H.C.: Increased expression of arginase II in human diabetic corpus cavernosum: in diabetic-associated erectile dysfunction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 283: 923–927
- [9] Buga G.M., Singh R., Pervin S., Rogers N.E., Schmitz D.A., Jenkinson C.P., Cederbaum S.D., Ignarro L.J.: Arginase activity in endothelial cells: inhibition by NG-hydroxy-L-arginine during high-output NO production. *Am. J. Physiol.*, 1996; 271: H1988–H1998
- [10] Buga G.M., Wei L.H., Bauer P.M., Fukuto J.M., Ignarro L.J.: NG-hydroxy-L-arginine and nitric oxide inhibit Caco-2 tumor cell proliferation by distinct mechanisms. *Am. J. Physiol.*, 1998; 275: R1256–R1264
- [11] Caldovic L., Tuchman M.: N-acetylglutamate and its changing role through evolution. *Biochem. J.*, 2003; 372: 279–290
- [12] 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. Genet. Metab.*, 2004; 81(Suppl.1): S38–S44
- [13] Ceylan E., Aksoy N., Gencer M., Vural H., Keles H., Selek S.: Evaluation of oxidative-antioxidative status and the L-arginine-nitric oxide pathway in asthmatic patients. *Respir. Med.*, 2005; 99: 871–876
- [14] Chang C.I., Liao J.C., Kuo L.: Arginase modulates nitric oxide production in activated macrophages. *Am. J. Physiol.*, 1998; 274: H342–H348
- [15] Chrzanowska A., Mielczarek-Puta M., Skwarek A., Krawczyk M., Barańczyk-Kuźma A.: Arginaza w surowicy krwi chorych z marskością i rakiem wątrobowo-komórkowym. *Wiad. Lek.*, 2007; 60: 215–218
- [16] Costa A., Trainer P., Besser M., Grossman A.: Nitric oxide modulates the release of corticotropin-releasing hormone from the rat hypothalamus *in vitro*. *Brain Res.*, 1993; 605: 187–192
- [17] Crombez E.A., Cederbaum S.D.: Hyperargininemia due to liver arginase deficiency. *Mol. Genet. Metab.*, 2005; 84: 243–251
- [18] Di Costanzo L., Sabio G., Mora A., Rodriguez P.C., Ochoa A.C., Centeno F., Christianson D.W.: Crystal structure of human arginase I at 1.29-Å resolution and exploration of inhibition in the immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 13058–13063
- [19] Elgün S., Kumbasar H.: Increased serum arginase activity in depressed patients. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2000; 24: 227–232
- [20] Elitsur Y., Moshier J.A., Murthy R., Barbish A., Luk G.D.: Polyamine levels, ornithine decarboxylase (ODC) activity, and ODC-mRNA expression in normal and cancerous human colonocytes. *Life Sci.*, 1992; 50: 1417–1424
- [21] Ganz P.: Erectile dysfunction: pathophysiologic mechanisms pointing to underlying cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol.*, 2005; 96: 8M–12M
- [22] Gerber N.C., Nishida C.R., Ortiz de Montellano P.R.: Characterization of human liver inducible nitric oxide synthase expressed in *Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1997; 343: 249–253
- [23] Gökmen S.S., Aygıt A.C., Ayhan M.S., Yorulmaz F., Gülen S.: Significance of arginase and ornithine in malignant tumors of the human skin. *J. Lab. Clin. Med.*, 2001; 137: 340–344
- [24] Gotoh T., Sonoki T., Nagasaki A., Terada K., Takiguchi M., Mori M.: Molecular cloning of cDNA for nonhepatic mitochondrial arginase (arginase II) and comparison of its induction with nitric oxide synthase in a murine macrophage-like cell line. *FEBS Lett.*, 1996; 395: 119–122
- [25] Grody W.W., Argyle C., Kern R.M., Dizikes G.J., Spector E.B., Strickland A.D., Klein D., Cederbaum S.D.: Differential expression of the two human arginase genes in hyperargininemia. Enzymatic, pathological, and molecular analysis. *J. Clin. Invest.*, 1989; 83: 602–609
- [26] Grody W.W., Kern R.M., Klein D., Dodson A.E., Wissman P.B., Barsky S.H., Cederbaum S.D.: Arginase deficiency manifesting delayed clinical sequelae and induction of a kidney arginase isozyme. *Hum. Genet.*, 1993; 91: 1–5
- [27] Harris B.E., Pretlow T.P., Bradley E.L. Jr., Whitehurst G.B., Pretlow T.G. II: Arginase activity in prostatic tissue of patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *Cancer Res.*, 1983; 43: 3008–3012
- [28] Igarashi K., Kashiwagi K.: Polyamines: mysterious modulators of cellular functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 271: 559–564
- [29] Johnson L.R., McCormack S.A.: Healing of gastrointestinal mucosa: involvement of polyamines. *News Physiol. Sci.*, 1999; 14: 12–17
- [30] Kanazawa H., Hirata K., Yoshikawa J.: Role of endogenous nitric oxide in exercise-induced airway narrowing in patients with bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000; 106: 1081–1087
- [31] Keskinige A., Elgün S., Yilmaz E.: Possible implications of arginase and diamine oxidase in prostatic carcinoma. *Cancer Detect. Prev.*, 2001; 25: 76–79
- [32] Klases S., Hammermann R., Fuhrmann M., Lindemann D., Beck K.F., Pfeilschifter J., Racké K.: Glucocorticoids inhibit lipopolysaccharide-induced up-regulation of arginase in rat alveolar macrophages. *Br. J. Pharmacol.*, 2001; 132: 1349–1357
- [33] Knowles R.G., Moncada S.: Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem. J.*, 1994; 298: 249–258
- [34] Kwon H., Wu G., Bazer F.W., Spencer T.E.: Developmental changes in polyamine levels and synthesis in the ovine conceptus. *Biol. Reprod.*, 2003; 69: 1626–1634
- [35] Lechner M., Lirk P., Rieder J.: Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in tumor biology: the two sides of the same coin. *Semin. Cancer Biol.*, 2005; 15: 277–289
- [36] 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. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 4843–4848
- [37] Leu S.Y., Wang S.R.: Clinical significance of arginase in colorectal cancer. *Cancer*, 1992; 70: 733–736
- [38] Lewandowicz A.M., Pawliczak R.: Znaczenie metabolizmu argininy w astmie oskrzelowej. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 156–166
- [39] Li G., Regunathan S., Barrow C.J., Eshraghi J., Cooper R., Reis D.J.: Argmatine: an endogenous clonidine displacing substance in the brain. *Science*, 1994; 263: 966–969
- [40] Liew F.Y.: Regulation of nitric oxide synthesis in infectious and autoimmune diseases. *Immunol. Lett.*, 1994; 43: 95–98
- [41] Mielczarek M., Chrzanowska A., Ścibior D., Skwarek A., Ashamiss F., Lewandowska K., Barańczyk-Kuźma A.: Arginase as a useful factor for the diagnosis of colorectal cancer liver metastases. *Int. J. Biol. Markers*, 2006; 21: 40–44
- [42] Moinard C., Cynober L., de Bandt J.P.: Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clin. Nutr.*, 2005; 24: 184–197
- [43] Mori M., Gotoh T.: Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 275: 715–719
- [44] Morris S.M. Jr., Billiar T.R.: New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol.*, 1994; 266: E829–E839
- [45] Morris S.M. Jr., Kepka-Lenhart D., Chen L.C.: Differential regulation of arginases and inducible nitric oxide synthase in murine macrophage cells. *Am. J. Physiol.*, 1998; 275: E740–E747
- [46] Mortensen K., Christensen I.J., Nielsen H.J., Hansen U., Larsson L.L.: High expression of endothelial cell nitric oxide synthase in peritumoral microvessels predicts increased disease-free survival in colorectal cancer. *Cancer Lett.*, 2004; 216: 109–114
- [47] Ochoa J.B., Bernard A.C., Mistry S.K., Morris S.M. Jr., Figert P.L., Maley M.E., Tsuei B.J., Boulanger B.R., Kearney P.A.: Trauma increases extrahepatic arginase activity. *Surgery*, 2000; 127: 419–426
- [48] Ochoa J.B., Bernard A.C., O'Brien W.E., Griffen M.M., Maley M.E., Rockich A.K., Tsuei B.J., Boulanger B.R., Kearney P.A., Morris S.M. Jr.: Arginase I expression and activity in human mononuclear cells after injury. *Ann. Surg.*, 2001; 233: 393–399
- [49] Owens M.J., Nemeroff C.B.: The role of corticotropin-releasing factor in the pathophysiology of affective and anxiety disorders: laboratory and clinical studies. *Ciba Found. Symp.*, 1993; 172: 296–316
- [50] Pegg A.E., McCann P.P.: Polyamine metabolism and function. *Am. J. Physiol.*, 1982; 243: C212–C221

- [51] Polat M.F., Taysi S., Polat S., Böyük A., Bakan E.: Elevated serum arginase activity levels in patients with breast cancer. *Surg. Today*, 2003; 33: 655–661
- [52] Porembaska Z., Luboiński G., Chrzanoska A., Mielczarek M., Magnuska J., Barańczyk-Kuźma A.: Arginase in patients with breast cancer. *Clin. Chim. Acta*, 2003; 328: 105–111
- [53] Porembaska Z., Mielczarek M., Nyckowski P., Barańczyk-Kuźma A.: Arginaza jako marker procesu nowotworowego. I. Monitorowanie pacjentów po resekcji raka jelita grubego. *Pol. Merk. Lek.*, 2002; 13: 284–285
- [54] Porembaska Z., Nyckowski P., Skwarek A., Mielczarek M., Barańczyk-Kuźma A.: Arginaza jako marker procesu nowotworowego. II. Monitorowanie pacjentów po resekcji przerzutów raka jelita grubego do wątroby. *Pol. Merk. Lek.*, 2002; 13: 286–288
- [55] Porembaska Z., Ścibior D., Lewandowska K., Małkowski P.: Usefulness of preoperative assay of arginase in pancreatic cancer patients. *Pol. Merk. Lek.*, 2003; 15: 511–514
- [56] Porembaska Z., Skwarek A., Mielczarek M., Barańczyk-Kuźma A.: Serum arginase activity in postsurgical monitoring of patients with colorectal carcinoma. *Cancer*, 2002; 94: 2930–2934
- [57] Raadsheer F.C., Hoogendijk W.J., Stam F.C., Tilders F.J., Swaab D.F.: Increased numbers of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of depressed patients. *Neuroendocrinology*, 1994; 60: 436–444
- [58] Rao C.V.: Nitric oxide signaling in colon cancer chemoprevention. *Mutat. Res.*, 2004; 555: 107–119
- [59] Reeds P.J., Burrin D.G., Stoll B., Jahoor F.: Intestinal glutamate metabolism. *J. Nutr.*, 2000; 130 (4S Suppl.): 978S–982S
- [60] Romero-Grimaldi C., Gheusi G., Lledo P.M., Estrada C.: Chronic inhibition of nitric oxide synthesis enhances both subventricular zone neurogenesis and olfactory learning in adult mice. *Eur. J. Neurosci.*, 2006; 24: 2461–2470
- [61] Russell D.H., McVicker T.A.: Polyamine biogenesis in the rat mammary gland during pregnancy and lactation. *Biochem. J.*, 1972; 130: 71–76
- [62] Shirakawa F., Mizel S.B.: *In vitro* activation and nuclear translocation of NF- κ B catalyzed by cyclic AMP-dependent protein kinase and protein kinase C. *Mol. Cell. Biol.*, 1989; 9: 2424–2430
- [63] Singh R., Pervin S., Karimi A., Cederbaum S., Chaudhuri G.: Arginase activity in human breast cancer cell lines: N ω -hydroxy-L-arginine selectively inhibits cell proliferation and induces apoptosis in MDA-MB-468 cells. *Cancer Res.*, 2000; 60: 3305–3312
- [64] Sokołowska M., Włodek L.: Dobre i złe strony tlenu azotu. *Folia Cardiol.*, 2001; 8: 467–477
- [65] Sonoki T., Nagasaki A., Gotoh T., Takiguchi M., Takeya M., Matsuzaki H., Mori M.: Coinduction of nitric-oxide synthase and arginase I in cultured rat peritoneal macrophages and rat tissues *in vivo* by lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 3689–3693
- [66] Straus B., Cepelak I., Festa G.: Arginase, a new marker of mammary carcinoma. *Clin. Chim. Acta*, 1992; 210: 5–12
- [67] Süer Gökmen S., Yörük Y., Cakir E., Yorulmaz F., Gülen S.: Arginase and ornithine, as markers in human non-small cell lung carcinoma. *Cancer Biochem. Biophys.*, 1999; 17: 125–131
- [68] Ścibior D., Czeżot H.: Arginina – metabolizm i funkcje w organizmie człowieka. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 321–332
- [69] Tapiero H., Mathé G., Couvreur P., Tew K.D.: II. Glutamine and glutamate. *Biomed. Pharmacother.*, 2002; 56: 446–457
- [70] Wei L.H., Jacobs A.T., Morris S.M. Jr., Ignarro L.J.: IL-4 and IL-13 upregulate arginase I expression by cAMP and JAK/STAT6 pathways in vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2000; 279: C248–C256
- [71] Wei L.H., Morris S.M. Jr., Cederbaum S.D., Mori M., Ignarro L.J.: Induction of arginase II in human Caco-2 tumor cells by cyclic AMP. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2000; 374: 255–260
- [72] Wu C.W., Chung W.W., Chi C.W., Kao H.L., Lui W.Y., P'eng F.K., Wang S.R.: Immunohistochemical study of arginase in cancer of the stomach. *Virchows Arch.*, 1996; 428: 325–331
- [73] Wu G., Morris S.M. Jr.: Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.*, 1998; 336: 1–17
- [74] Zimmermann N., King N.E., Laporte J., Yang M., Mishra A., Pope S.M., Muntel E.E., Witte D.P., Pegg A.A., Foster P.S., Hamid Q., Rothenberg M.E.: Dissection of experimental asthma with DNA microarray analysis identifies arginase in asthma pathogenesis. *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 1863–1874