

STREPTOZOTOSİN (STZ) İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA DOKU ARGİNAZ AKTİVİTESİ VE ORNİTİN DÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Selda METİN¹, Selma Süer GÖKMEN¹, M.Semih AYHAN², A.Cemal AYGIT², Şendoğan GÜLEN¹

CHANGES IN TISSUE ARGINASE ACTIVITY AND ORNITHINE LEVEL IN STREPTOZOTOCIN (STZ)-INDUCED DIABETIC RATS

Summary: It has been known that, there is an increase in the catabolism of proteins and the excretion of urea nitrogen in diabetes mellitus. The mechanism of this increase has not been revealed. In this study, we investigated the activity of arginase which catalyzes the final step of the urea cycle and the level of ornithine which is the product of arginase to evaluate the role of arginase in the elevation of protein catabolism in diabetes mellitus. The activity of arginase in the liver ($p<0.001$), kidney ($p<0.001$) and spleen ($p<0.001$) of STZ-induced diabetic rats was significantly higher, and the activity in the brain ($p<0.001$) was significantly lower than the control group. The levels of ornithine in the liver tissue from the diabetic rats were also significantly higher than the control group ($p<0.001$). The levels of ornithine in the kidney, spleen and brain tissues were not different in the diabetic and control rats. We may report that, in diabetes mellitus, an increase in the activity of hepatic arginase may result in an increase in the elevation of the production and excretion of urea by increasing the urea cycle which is one of the important stage of protein catabolism. An increase in the activity of extrahepatic arginase may play an important role in the production of ornithine, a precursor for the biosynthesis of polyamines which increase the production of proteins.

Key Words: Arginase, ornithine, STZ-induced diabetic rats

Özet: Diyabette protein katabolizmasında ve üre azotunun atılımında önemli bir artışın varolduğu bilinmesine rağmen, bu artışın mekanizması henüz aydınlatılamamıştır. Çalışmamızda streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş ratların çeşitli organlarında üre döngüsünün son basamağını katalize eden arginaz enziminin aktivitesi ve onun ürünü olan ornitin düzeyi incelenerek, diyabette gözlenen protein katabolizmasındaki artışta arginazın rolü irdelendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik ratların karaciğer ($p<0.001$), böbrek ($p<0.001$) ve dalak ($p<0.001$) dokularındaki arginaz aktiviteleri anlamlı olarak daha yüksek, beyin ($p<0.001$) dokusundaki arginaz aktivitesi ise anlamlı olarak daha düşük bulundu. Diyabetik grubun karaciğer dokusundaki ornitin düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.001$). Buna karşılık, diyabetik ve kontrol grubu ratların böbrek, dalak ve beyin dokularının ornitin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Diabetes mellitus'ta karaciğer arginaz aktivitesindeki artış protein katabolizmasının önemli bir safhası olan üre döngüsünü hızlandırarak üre oluşumunda ve atılımında; bir artışa yol açabileceğini, karaciğer dışı organların arginaz aktivitesinde görülen artış ise proteinlerin üretimini artıran poliaminlerin biyosentezinde öncül madde olan ornitinin üretiminde önemli rol oynayabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Arginaz, ornitin, STZ-diyabetik rat



GİRİŞ

Memeli üre siklusunun son enzimi olan arginaz (L-arginin amidinohidrolaz; E. C. 3. 5. 3. 1), argininin üre ve ornitine hidrolizini katalizler (1). Arginaz başlıca karaciğerde bulunur ancak üre siklusunun etkin olmadığı karaciğer dışı dokularda da aktivitesine rastlandığından (2), bu dokulardaki görevinin poliamin biyosentezinde öncül molekül olan ornitini hücrelere sağlamak olduğu düşünülmektedir (3,4). Memeli hücrelerinde bulunan alifatik poliaminler; (putresin, spermidin ve spermin) hücre büyümesi için gerekli olup, transkripsiyon, translasyon ve protein sentezinin başlamasını kolaylaştırır (5).

Poliamin sentezindeki ilk basamak argininin arginaz ile ornitine dönüşümüdür. Daha sonra ornitin dekarboksilaz aracılığı ile ornitinden putresin oluşumu sağlanır (3,4). İnsülin-bağımlı diyabet, artmış besin tüketimi, amino asit metabolizması ve artmış kan glukagon/insülin oranı ile ilişkili olup, bunların tümü üre döngüsünün aktivitesini artırmaya eğilimlidir (6). Pankreatik glukagonun plazma konsantrasyonunun kontrolsüz diyabette arttığı ve bunun da üre döngüsü enzimlerinin aktivitesinde artışa yol açabileceği bildirilmiştir (7). Bir başka çalışmada glukagon infüzyonunun üre siklusu enzimlerinin aktivitesinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (8).

Eksojen olarak verilen argininin de diyabetik ve normal doku arginaz aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (9). Son yıllarda diyabetik sıçan karaciğerinde mangan gibi metallerin arttığı gözlenmiştir (10). Arginazın yapısının stabilitesi ve aktivitesi için Mn^{2+} iyonlarına ihtiyaç vardır (11,12) ve Mn^{2+} iyonlarının uzaklaştırılması enzimin ısıya dayanıklılığını ve katalitik fonksiyonunu azaltır (13).

Bir başka çalışmada glukozun, in vitro poliamin biyosentezini uyardığı ileri sürülmüştür (14).

Diyabetik sıçanlarda böbrek ornitin dekarboksilaz aktivitesinde bir artış olduğu ve poliaminlerin

diyabetik renal hipertrofi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Diyabetik karaciğerde ornitin dekarboksilaz aktivitesinin düşük olduğu (15) ancak insülin infüzyonunun karaciğer ornitin dekarboksilaz aktivitesinde bir artışa yol açtığı ileri sürülmüştür (16).

Alloxan ile diyabet oluşturulmuş sıçanların pankreasındaki poliamin konsantrasyonunda ise bir azalma olduğu ve bu azalmanın pankreatik arginaz aktivitesindeki azalmayla yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (9). Pankreas üre döngüsünün diğer enzimlerinden yoksun olduğundan, pankreatik arginaz poliamin biyosentezine ornitin sağlamada önemli bir role sahip olabilir.

Bu çalışmada streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanların karaciğer, böbrek, dalak ve beyin dokularındaki arginaz aktivitesi ve ornitin düzeyleri incelenerek, arginazın diyabette gözlenen protein katabolizması artışındaki rolü irdelenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Çalışma ağırlıkları 280-340 gram arasında değişen 30 adet Wistar albino cinsi erkek ratlarda gerçekleştirildi. Ratlar kontrol ve diyabetik grup olmak üzere eşit olarak ikiye bölündü ve her iki gruptaki kan glukoz düzeyleri glukoz oksidaz yöntemiyle tayin edildi. Daha sonra diyabetik gruptaki ratlara kilogram başına 65 mg streptozotosin 20 mM trisodyum sitrat tamponu (pH4.5) içinde intraperitoneal verilerek diyabet oluşturuldu. Kontrol grubundaki ratlara ise sadece % 0.9'luk NaCl çözeltisi intraperitoneal olarak enjekte edildi. Diyabetik grupta hipergliseminin varlığı strip aracılığıyla glikozüri düzeyleri ölçülerek düzenli olarak takip edildi. Bir ay sonra ratlar eter ile anestezi altına alınarak karaciğer, böbrek, dalak ve beyin dokuları çıkarıldı.

Dokular soğuk % 0.9'luk NaCl çözeltisi ile yıkanarak, ayrı ayrı tartıldı ve Potter-tipi homojenizatörde ağırlıklarının 10 katı soğuk

Tris/HCl tamponu (pH:8.05, 0.05 M) ile homojenize edildi. Doku homojenatları 4 °C'ta 11.000 x g'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant alındı. Doku arginaz aktivitesi Geyer ve Dabich metodu (17), ornitin düzeyleri Chinard metodu (18) ve protein miktarları Lowry yöntemi (19) ile tayin edildi.

Verilerin istatistiksel analizinde Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

Ortalama arginaz aktivitesi diyabetik ve kontrol ratların karaciğer dokularında sırasıyla 289.02 ± 70.61 U/mg protein ve 150.27 ± 21.41 U/mg protein, böbrek dokularında 9.23 ± 1.10 U/mg protein ve 3.92 ± 0.92 U/mg protein, dalak dokularında 0.62 ± 0.19 U/mg protein ve 0.27 ± 0.10 U/mg protein ve beyin dokularında 0.42 ± 0.11 U/mg protein ve 0.67 ± 0.10 U/mg protein olup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik ratların karaciğer ($p<0.001$), böbrek ($p<0.001$) ve dalak ($p<0.001$) dokularındaki arginaz aktiviteleri anlamlı olarak daha yüksek, beyin ($p<0.001$) dokularındaki arginaz aktivitesi ise anlamlı olarak daha düşüktü (Tablo I). Ornitin düzeyleri ise diyabetik rat karaciğer dokularında 0.05 ± 0.02 mmol/mg protein, kontrol rat karaciğer dokularında 0.02 ± 0.003 mmol/mg protein olup, diyabetik gruptaki ornitin düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksekti ($p<0.001$) (Tablo I). Diyabetik ve kontrol ratların böbrek, dalak ve beyin dokularındaki ornitin düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

TARTIŞMA

Memelilerde amino asitlerin amino gruplarının uzaklaştırılmasındaki başlıca yol; karaciğerde üre sentezidir. Arginaz; üre döngüsünün son basamağında argininden üre ve ornitin oluşumunu katalize eder (1). Arginaz başlıca karaciğerde bulunmakla birlikte, diğer bazı doku ve hücrelerde de aktivitesine rastlanır (2).

Üre atılımında bir artış ile karakterize olan bazı

durumlarda üre siklusundaki enzimlerin aktivitelerinde de adaptif değişiklikler meydana gelir. Örneğin, yüksek protein diyetine (20) ve glukagon verilmesine (8) yanıt olarak sıçan karaciğerindeki arginaz aktivitesinde artış saptanmıştır.

Diabetik sıçan karaciğerinin amino asit konsantrasyonunda bir artış olduğu bildirilmiştir (21). Diyabette üre oluşumunda da bir artışın bulunduğu in vivo olarak gösterilmiştir. İnsüline bağımlı diyabet besin tüketiminde, aminoasit metabolizmasında ve kan glukagon/insülin oranında artış ile karakterizedir (6). Kısacası diyabette protein katabolizmasında ve üre azotunun atılımında önemli bir artış bulunmaktadır. Ancak bu artışın moleküler mekanizması henüz bilinmemektedir.

Bu çalışmada STZ ile diyabet oluşturulmuş ratların karaciğer, böbrek, dalak ve beyin dokularında arginaz aktivitesi ve ornitin düzeyleri incelenerek, diyabette gözlenen protein katabolizması artışında arginazın rolü irdelenmiştir. Çalışmamızda diyabetik ratların karaciğer ($p<0.001$), böbrek ($p<0.001$) ve dalak ($p<0.001$) arginaz aktivitelerinin kontrol grubundaki ratlara göre anlamlı olarak daha yüksek oldukları saptanmıştır. Karaciğer arginaz aktivitesindeki artış, karaciğerin üre döngüsünden sorumlu başlıca organ olması nedeniyle, diyabette artmış üre oluşumu ve atılımından sorumlu olabilir.

Karaciğer dışındaki arginazın poliamin biyosentezi için öncül madde olan ornitini sağlamada bir rol oynadığı ileri sürülmüştür. Poliaminler, hızla bölünen ve çoğalan hücrelerde fazla miktarlarda sentezlenen organik katyonlardır (3,5). Alifatik poliaminler; putresin, spermidin ve spermin, transkripsiyon ve protein sentezinin başlama safhasını kolaylaştırarak, protein üretiminde önemli rol oynarlar (5). Poliamin sentezinde ilk reaksiyon arginaz aracılığıyla argininden ornitin oluşumudur. Bir sonraki basamakta ise regülatör enzim olarak kabul edilen ornitin dekarboksilaz, ornitinin putresine dönüşümünü katalize eder (3,5).



Tablo 1. STZ-Diyabetik ve kontrol ratların karaciğer, böbrek ve beyin dokusu arginaz aktiviteleri

Grup	n	Karaciğer x ± SD	Böbrek x ± SD	Dalak x ± SD	Beyin x ± SD
Diyabetik Arginaz (U/mg protein)	15	289 ± 70.6*	9.23 ± 1.10*	0.62 ± 0.19*	0.42 ± 0.11*
Diyabetik Ornitin (µmol/mg protein)	15	0.05 ± 0.02*	0.10 ± 0.02	0.02 ± 0.008	0.07 ± 0.01*
Kontrol Arginaz (U/mg protein)	15	150 ± 21.4	3.92 ± 0.92	0.27 ± 0.10	0.67 ± 0.10
Kontrol Ornitin (µmol/mg protein)	15	0.02 ± 0.003	0.09 ± 0.02	0.02 ± 0.009	0.06 ± 0.02

*p<0.001

Çalışmamızda ornitin düzeyleri diyabetik ratların sadece karaciğer dokularında kontrol grubuna göre artmış bulundu (p<0.001). Üre siklusundan sorumlu olan karaciğerde, diyabetik durumda arginaz aktivitesinde gözlenen artışın, ornitin düzeylerinde de bir artışa yol açması beklenebilir, zira arginaz, argininin, üre ve ornitine hidrolizini katalizleyen enzimdir. Bu bulgu diyabetik sıçan karaciğerinin ornitin dekarboksilaz aktivitesinde bir azalma olduğunu gösteren çalışma (15) ile tutarlıdır. Bu sonuçlarla, diyabetik rat karaciğerinin arginaz aktivitesinde gözlenen artışın üre ve ornitin sentezinde bir artışa yol açabileceğini ancak karaciğerdeki poliamin biyosentezinde çok önemli bir rolünün olamayacağını söyleyebiliriz.

Çalışmamızda diyabetik ratların böbrek ve dalak dokularının arginaz aktivitesindeki artışa rağmen, ornitin düzeylerinde bir değişiklik saptanmamış olması bu dokularda ornitin poliamin biyosentezi için kullanıldığı düşüncesini desteklemektedir.

Akciğer kanserli küçük hücreli tipi dışı ve malign cilt kanserli hastaların tümör dokularındaki arginaz aktivitesinde ve ornitin düzeylerinde bir artış olduğu gösterilmiş ve bunun poliamin üretiminde ve karsinogenezde önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (22,23). Kanser hücrelerinde poliamin düzeylerindeki ve ornitin dekarboksilaz aktivitesindeki artışa (24-29) dolayısıyla ornitin poliamin sentezi için daha çok kullanılıyor olmasına rağmen hücrede ornitin düzeylerinin yüksek kalması, kanser hücresinde artmış, kontrolsüz büyüme ve

bölünme ile açıklanabilir. Hücrede artmış arginaz aktivitesinin kanser patogenezinde rolü olabileceği gibi, kanserli hücrede artmış büyüme ve bölünme de arginaz proteininin sentezinde artışa yol açıyor olabilir.

Diyabetik ratların böbrek ve dalak dokularının arginaz aktivitesindeki artışın hücreye poliamin sentezi için öncül madde olan ornitini sağlayarak, protein üretiminde ve izleyen katabolizmasında bir artışa başlatmada rolü olabilir.

Diyabetik sıçanların böbrek ornitin dekarboksilaz aktivitesinde bir artış olduğu ve poliaminlerin diyabette gözlenen renal hipertrofiye önemli rol oynayabilecekleri ileri sürülmüştür (15).

Arginaz pankreatik protein sentezinde de önemli bir role sahip görünmektedir. Poliaminlerin pankreas adacıklarında yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu (14) ve alloxan ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda pankreastaki poliamin konsantrasyonunda bir azalma olduğu (9,30), bu azalmanın dokudaki arginaz aktivitesindeki kayıp ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (9). Ayrıca putresin ve spermidinin in vitro insülin ve protein biyosentezi için gerekli olduğu (31) ve bu nedenle arginazın insülin biyosentezinin regülasyonu ve sekresyonu ile de ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (9). Bir başka çalışmada ise eksojen argininin güçlü bir insülin salgılatıcısı olduğu bildirilmiştir (32). Argininin bu etkisinde insülin biyosentezinin regülasyonu ve sekresyonunda görev alan poliaminlerin biyosentezi için ornitin sağlaması

önemli rol oynayabilir. Eksojen verilen arginin aynı zamanda diyabetik ve normal sıçanların doku arginaz aktivitesinde artışa yol açtığı da gösterilmiştir (9).

Çalışmamızda diyabetik ratların beyin dokusundaki arginaz aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($p < 0.001$). Amino asitlerin katabolizmasından kaynaklanan amonyağın uzaklaştırılması için başlıca yol karaciğerde üre oluşumu iken, beyinde glutamin oluşumdur. Beyin dokusunda da üre oluşturulabilir ancak bu amonyağın uzaklaştırılmasında önemli rol oynamaz (20). Glutamin oluşumu için öncül molekül sitrik asit döngüsünün bir üyesi olan a-ketoglutarattır. Üre döngüsünün bir ara maddesi olan fumarat aracılığıyla üre ve sitrik asit döngüleri birbirine kenetlenmiştir (33). Diyabette artmış üre döngüsü, sitrik asit döngüsüne daha çok ara madde sağlayarak, a-ketoglutarat üretiminde ve beyin tarafından bu a-ketoglutaratın amonyağın uzaklaştırılması için kullanılmasında artışa yol açabilir. Böyle bir durumda beyinin üre döngüsüne olan gereksinimi daha da azalacağından arginaz aktivitesinde bir düşme beklenebilir.

Sonuç olarak diyabette karaciğer arginaz aktivitesinde görülen artışın protein katabolizmasının önemli bir safhası olan üre oluşumunda ve atılımında bir artışa yol açabileceğini, karaciğer dışı organların arginaz aktivitesinde görülen artışın ise poliamin biyosentezinin öncül maddesi olan ornitini sağlamada önemli rol oynayabileceğini söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Berueter, J., Colombo, J.P., Bachmann, C. (1978) Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes. *Biochem. J.* 175, 449-454.
2. Colombo, J.P., Konarska, L. (1984) Arginase. In: Bergmeyer, H.U., eds. *Methods of enzymatic analysis*. Vol. IV. Verlag Chemie, 285-294.
3. Pegg, A.E., Mc Cann, P.P. (1982) Polyamine metabolism and function. *Am. J. Physiol.* 243, 212-221.
4. Pegg, A.E. (1986) Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem. J.* 234, 249-262.
5. Hebbly, O. (1981) Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation. *Differentiation* 19, 1-20.
6. Jorda, A., Cabo, J., Grisolia, S. (1981) Changes in the levels of urea cycle enzymes and in metabolites thereof in diabetes. *Enzyme* 26, 240-244.
7. Unger, R.H., Orci, L. (1977) The role of glucagon in the endogenous hyperglycemia of diabetes mellitus. *Ann. Rev. Med.* 28, 119-130.
8. Snodgrass, P.J., Lin, R.C., Muller, W.A. et al. (1978) Induction of urea cycle enzymes of rat liver by glucagon. *J. Biol. Chem.* 253, 2748-2753.
9. Mendez, J.D., Areola, M.A. (1992) Effect of L-arginine on pancreatic arginase activity and polyamines in alloxan-treated rats. *Biochem. Int.* 28, 569-575.
10. Failla, M.L., Kiser, R.A. (1981) Altered tissue content and cytosol distribution of trace metals in experimental diabetes. *J. Nutr.* 111, 1900-1909.
11. Ikemoto, M., Tabata, M., Murachi, T., Totani, M. (1989) Purification and properties of human erythrocyte arginase. *Ann. Clin. Biochem.* 26, 547-553.
12. Konarska, L., Tomaszewski, L. (1986) Studies on L-arginase in developing rat small intestine, brain and kidney. I. Ontogenic evolution of arginase isoenzymes. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 35, 156-169.
13. Scolnick, L.R., Kanyo, Z.F., Cavalli, R.C., Ash, D.E., Christianson, D.W. (1997) Altering the binuclear manganese cluster of arginase diminishes thermostability and catalytic function. *Biochemistry* 36, 10558-10565.
14. Hougaard, D.M., Nielsen, J.H., Larsson, L.I. (1986) Localization and biosynthesis of polyamines in insulin-producing cells. *Biochem. J.* 238, 43-47.
15. Pedersen, S.B., Flyvbjerg, A., Gronbaek, H., Richelsen, B. (1992) Increased ornithine decarboxylase activity in kidneys undergoing hypertrophy in experimental diabetes. *Mol. Cell. Endocrinol.* 86, 67-72.
16. Brosnan, M.E., Roebathan, B.V., Hall, D.E. (1980) Polyamine and amino acid content, and activity of polyamine synthesizing decarboxylases, in liver of streptozotocin-induced diabetic and insulin-treated diabetic rats. *Biochem. J.* 190, 395-403.
17. Geyer, J.W., Dabich, D. (1971) Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal. Biochem.* 39, 412-417.



18. Chinard, F.P. (1952) Photometric estimation of proline and ornithine. *J. Biol. Chem.* 199, 91-95.
19. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.R., Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
20. Schimke, R.T. (1964) The importance of both synthesis and degradation in the control of arginase levels in rat liver. *J. Biol. Chem.* 39, 3808-3817.
21. Bloxam, D.L. (1972) Nutritional aspects of amino acid metabolism. The effects of diabetes on blood and liver amino acid concentrations in the rat. *Br. J. Nutr.* 27, 249-259.
22. Süer Gökmen, S., Yörük, Y., Çakır, E., Yorulmaz, F., Gülen, Ş. (1999) Arginase and ornithine, as markers in human non-small cell lung carcinoma. *Cancer. Biochem. Biophys.* 17, 125-131.
23. Süer Gökmen, S., Ayyıt, A.C., Ayhan, M.S., Yorulmaz, F., Gülen Ş. (2001) Significance of arginase and ornithine in malignant tumors of the human skin. *J. Lab. Clin. Med.* 137, 340-344.
24. Bettuzzi, S., Davalli, P., Astancolle, S., Carani, C., Madeo, B., Tampieri, A., et al. (2000) Tumor progression is accompanied by significant changes in the levels of expression of polyamine metabolism regulatory genes and clusterin (sulfated glycoprotein 2) in human prostate cancer specimens. *Cancer Res.* 60, 28-34.
25. Cipolla, B.G., Ziade, J., Bansard, J.Y., Moulinoux, J.P., Staerman, F., Quemener, V., Lobel, B., Guille, F. (1996) Pretherapeutic erythrocyte polyamine spermine levels discriminate high risk relapsing patients with M1 prostate carcinoma. *Cancer* 78, 1055-1065.
26. Clifford, A., Morgan, D., Yuspa, S.H., Soler, A.P., Gilmour, S. (1995) Role of ornithine decarboxylase in epidermal tumorigenesis. *Cancer Res.* 55, 1680-1686.
27. Canizares, F., Salinas, J., de las Heras, M. et al. (1999) Prognostic value of ornithine decarboxylase and polyamines in human breast cancer: correlation with clinicopathologic parameters. *Clin. Cancer Res.* 5, 2035-2041.
28. Mafune, K., Tanaka, Y., Mimori, K., Mori, M., Takubo, K., Makuuchi, M. (1999) Increased expression of ornithine decarboxylase messenger RNA in human esophageal carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 5, 4073-4078.
29. Tabib, A., Bachrach, U. (1999) Role of polyamines in mediating malignant transformation and oncogene expression. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 31, 1289-1295.
30. Conover, C.A., Rozovski, S.J., Belur, E.R., Aoki, T.T., Ruderman, N.B. (1980) Ornithine decarboxylase activity in insulin-deficient states. *Biochem. J.* 192, 725-732.
31. Welsh, N., Sjöholm, A. (1988) Polyamines and insulin production in isolated mouse pancreatic islets. *Biochem. J.* 252, 701-707.
32. Malaisse, W.J., Blachier, F., Mourtada, A., et al. (1989) Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release. Metabolism of L-arginine and L-ornithine in pancreatic islets. *Biochim. Biophys. Acta.* 1013, 133-143.
33. Stryer, L. (1996) Amino acid degradation and urea cycle. In: *Biochemistry.*, 4th ed. W.H. Freeman and company, New York, p. 629-652.