

Meme Kist Sıvısı Arginaz Aktivitesi, Ornitin ve Üre Düzeyleri

[Arginase Activity, Ornithine and Urea Levels in Breast Cyst Fluid]

¹Hakan Erbaş,
¹Oya Erten,
¹Aynur Dağlar,
²Mehmet E. İrfanoğlu

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, ¹Biyokimya
ve ²Genel Cerrahi Anabilim Dalları, 22030,
Edirne/TURKEY

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Yrd.Doç.Dr. Hakan ERBAŞ

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
22030, Edirne
Tel: 0284 2357642/1620
E-posta: herbas@mail.trakya.edu.tr

Kayıt tarihi 28 Nisan 2005; kabul tarihi 20 Nisan 2006
[Received 28 April 2005; accepted 20 April 2006]

ÖZET

Kistik meme hastalıkları günümüzde her 20 kadından birini etkileyen ve bu yapısıyla kadın memesinin en yaygın selim oluşumudur. Epitel yapısı göz önüne alındığında apokrin epitelli (Na/K<3) ve düz epitelli (Na/K>3) olmak üzere 2 tür meme kisti vardır. Kist sıvılarının elektrolit düzeyleri ile epitelyal yapıları paralellik göstermektedir. Yapılan çalışmalar meme kisti olan kadınların yaşamlarının sonraki dönemlerinde meme kanserine yakalanma riskinin 2 ile 4,4 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Arginaz, arjininin üre ve ornitine hidrolizinden sorumlu bir enzimdir. Üre sentezindeki vazgeçilmez rolünün yanında, poliamin, prolin ve glutamat sentezi için ornitin üretimini de sağlar. Bu çalışmada, meme kanseri gelişimi yönünden yüksek ve düşük risk oluşturan meme kist sıvıları içinde arginaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre düzeylerinin karşılaştırılması ile, henüz tam olarak çözülmemiş olan kistik meme hastalıkları ve kanser gelişim mekanizmasının anlaşılmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır. Arginaz enzim aktiviteleri, ornitin ve üre düzeyleri meme kanseri gelişimi yönünden yüksek risk grubunu oluşturan apokrin (Na/K<3) kistlerde, düşük risk grubuna (Na/K>3) oranla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Protein düzeylerinde ise iki grup arasında istatistiksel bir anlamlı farklılık bulunamamıştır. Meme kanseri yönünden yüksek riske sahip olan apokrin kist sıvılarında bulunan yüksek arginaz enzim aktivitesi, kanser oluşumunda etkili bir ajan olarak gösterilen poliaminlerin sentezini artırarak, özellikle apokrin kiste sahip kistlerde dengenin meme kanseri yönünde kaymasına neden olabilir.

Anahtar Kelimeler: Meme kist sıvısı, arginaz, ornitin, üre, meme kanseri.

ABSTRACT

Gross cystic disease of breast is the commonest benign disease of breast effecting 1:20 women in the western world. There are two groups of breast cyst; lined either by metaplastic epithelium (Na/K<3) or flattened epithelium (Na/K>3). There is clear parallelism between their electrolyte ratios and epithelial characters. Several large studies have shown that the risk of breast cancer in women with gross cystic disease to be 2 to 4,4 times higher and women with “apocrine” breast cyst may have a higher risk of developing breast cancer than women with breast cyst lined by flattened epithelium. Arginase, a cytoplasmic enzyme, catalyzes the hydrolysis of L-arjinine to urea and ornithine in the last step of the mammalian urea cycle. The most important function of arginase is the synthesis of urea. Arginase also plays an important role in the synthesis of polyamines through the ornithine. The aim of the present study was to compare the distributions of arginase, ornithine and urea concentrations in breast cyst fluid in the 2 sub-groups of breast cyst. The possible roles which arginase, ornithine and urea may have on breast cancer development were investigated. Arginase enzyme activities, ornithine and urea levels were significantly higher in the apocrine cyst group. There was no difference in protein levels between the two cyst groups. In conclusion the finding of high arginase activity and ornithine levels in high risk breast cyst group the breast cyst may lead to an increase in the production of polyamines which were shown to be tumor promoting agents, and thus may lead to development of breast cancer from the gross cystic breast disease.

Key Words: Breast cyst fluid, arginase, ornithine, urea, breast cancer.

GİRİŞ

Kistik meme hastalıkları %7-10 görülme sıklığı ile kadın memesinde görülen en yaygın hastalıktır. Kistik hastalıklar memede içi sıvı ile dolu, çapları 3 mm'den büyük ve apokrin metaplastik veya düz epitel hücreleri ile çevrili oluşumlardır. Kistik meme hastalıkları ile meme kanserinin patofizyolojisi arasındaki ilişki henüz tam olarak açığa kavuşmasa da, kistik meme hastalığına sahip kadınların meme kanserine yakalanma oranının 2-4,4 kat arttığını gösteren geniş kapsamlı birçok çalışma bulunmaktadır (1-3). Apokrin metaplastik epitele sahip meme kistlerinin Na/K oranları 3'den düşükken, bu oran düz epitele sahip meme kistlerinde 3'den büyüktür (3,4). Yapılan diğer çalışmalar, özellikle apokrin epitele (Na/K <3) sahip olan ve meme dokusunda birden fazla (multiple) kist bulunduran hastalarda meme kanserine yakalanma riskinin daha da arttığını göstermiştir (5,6). Multiple kiste sahip hastalarda genellikle aynı tip kiste rastlanmakta, bu da sıklıkla apokrin kist olmaktadır (5). Kistik meme hastalığına sahip kadınlarda, olası kanser gelişimi yönündeki mekanizma halen çözülmemiş değildir ve bu konu üzerindeki araştırmalar sürmektedir.

Arginaz, (L-arjinin amidinohidrolaz; E.C.3.5.3.1) azot metabolizmasının kilit enzimidir. Ana substratı olan arjinini, üre ve L-ornitine dönüştürür. Son yıllarda yapılan çalışmalar, memelilerde arginaz-I (A-I) ve II (A-II) olmak üzere en az iki farklı formu olduğunu göstermiştir. Bunlardan A-I sitoplazmik kökenli ve ağırlıklı olarak karaciğerde bulunurken, A-II, böbrek, beyin, ince barsak, meme dokusu ve makrofaj gibi ekstrahepatik dokularda bulunmakta ve mitokondriler içinde yerleşim göstermektedir (7).

Arginaz'ın tetiklediği tepkimenin üre ve ornitin olmak üzere iki ürünü vardır. Arjininden oluşan ornitin, akut inflamasyona cevap olarak ve hücre proliferasyonunu sağlamak üzere poliaminlere dönüşür. Poliaminler (putresin, spermin ve spermidin) tüm memeli hücrelerinde bulunur. Hücre proliferasyonunun arttığı fizyolojik ve patolojik durumlarda, poliamin düzeylerinin de arttığı gösterilmiştir. Poliaminlerin, DNA ve RNA sentezi ile DNA'nın stabilizasyonunda uyarıcı etki göstermelerine paralel olarak, habis olaylarda artan hücre yapımı nedeniyle hücre içi poliamin metabolizmasının arttığı, özellikle eritrosit poliamin düzeylerinin tümör gelişimi ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir (8,9).

Diğer yandan, arginaz aktivitesi ile kanser türleri arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, arginaz aktivitesinin özellikle kalın barsak (10), kolorektal (11), prostat (12), pankreas (13), mide (14), küçük hücreli akciğer (15) ve meme (16) kanserlerinde arttığı gösterilmiştir. Kanserli hastalarda yükselen arginaz aktivitesi ile hücre üremesinde önemli bir işlevi olan poliaminler arasındaki ilişki, kanserojenik gelişimin artan poliamin sentezine bağlı olabileceği yargısını güçlendirmiştir (17). Dolayısı ile arginazın kanser geli-

şimi sürecinde biyolojik belirteç olarak kullanabileceği vurgulanmıştır (15).

Meme kanseri gelişimi ile ilişkili bulunan kistik meme hastalıklarında arginaz aktivitesinin varlığı, yine kötü sonuç ile yakından ilişkili olduğu bildirilen poliamin sentezinin artması, bu maddelerin kistik meme hastalıklarından kanser gelişimi sürecinde olası bir role sahip olabileceği düşüncesini akla getirecektir. Bu çalışmada, meme kanseri gelişimi yönünden yüksek ve düşük risk oluşturan meme kist sıvıları içinde arginaz aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri karşılaştırılarak, henüz tam olarak çözülmemiş olan kistik meme hastalıkları ve kanser gelişim mekanizmasının anlaşılmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta örnekleri:

Meme kist sıvısı örnekleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalına başvuran ve meme kisti teşhisi konulan toplam 26 hastadan (14 apokrin kist, Na/K <3 ve 12 flattened kist, Na/K >3) aspirasyon tekniği ile alındı. Örnekler 20 dakika 1000g'de santrifüj edildi ve süpernatantlar -80°C'de saklandı. Çalışma için yerel etik kurul onayı alındı.

Arginaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre düzeylerinin ölçülmesi

Meme kist sıvısı arginaz enzim aktiviteleri ve üre düzeyleri spektrofotometrik olarak tiyosemikarbazid diazotilmonoksim üre (TDMU) metodu ile ölçüldü (18). Bu metod, belli miktarda substrat olarak verilen L-arjininin hidrolizi sonucu oluşan üre miktarının belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Arginaz enzim aktivitesi 37°C ve 1 dakikada 1 µmol üre serbestleştiren enzim miktarı olarak tanımlandı ve proteine oranlandı.

Meme kist sıvısı ornitin düzeyleri Chinard metoduna göre ölçülmüştür (19). Total protein düzeylerinin tayininde ise Lowry metodu kullanılmıştır (20).

Na ve K değerlerinin ölçümü

Meme kist sıvısı Na ve K düzeyleri bir klinik biyokimya otoanalizörü (Beckman Coulter, LX20, USA) kullanılarak iyon selektif elektrot (ISE) yöntemi ile saptandı.

İstatistiksel analiz

Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak ifade edildi. Meme kanser gelişimi riski yüksek ve düşük olan gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arası korelasyonların değerlendirilmesinde ise Spearman Correlation testinden yararlanıldı. p < 0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Bu çalışmada meme kanseri yönünden yüksek ve düşük risk grubunu oluşturan meme kist sıvılarında arginaz enzim aktivitesi, ornitin, üre ve protein düzeyleri ölçül-

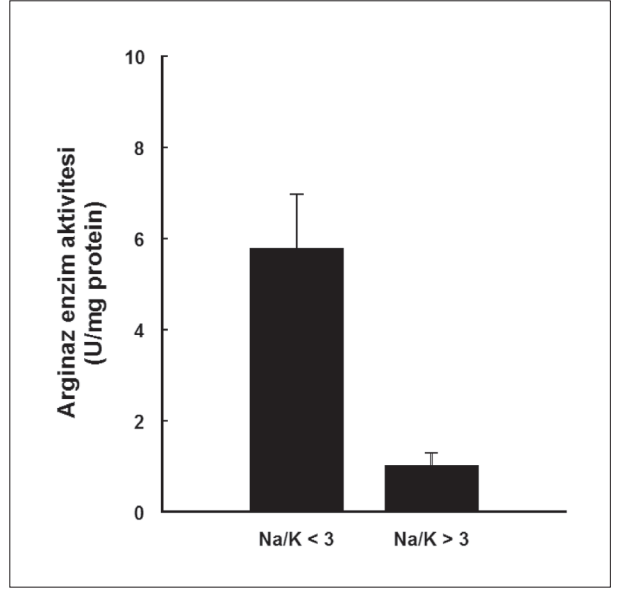
müş, meme kistleri Na/K oranları 3 den büyük ve küçük olmasına göre ikiye ayrılmıştır.

Arginaz aktiviteleri meme kanseri gelişimi yönünden yüksek risk grubunu oluşturan apokrin (Na/K <3) kistlerde, düşük risk grubuna oranla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (Tablo 1, Şekil 1). Benzer biçimde ornitin ve üre düzeyleri de yüksek risk grubunu oluşturan kistlerde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (Tablo 1, Şekil 2 ve 3). Protein düzeylerinde ise iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Na/K oranları dikkate alındığında iki grup arasında belirgin bir ayırım görülmüştür (Tablo 1, Şekil 4).

Gruplar arasındaki ilişkiler değerlendirildiğinde arginaz aktiviteleri, ornitin ve üre düzeyleri ile Na/K oranları arasında pozitif bir korelasyonun olduğu görülmüştür (Tablo 2). Gruplar arası diğer korelasyonlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Klinik olarak elle hissedilebilen meme kistlerinden meme kanseri gelişim riski çeşitli uzun dönem çalışmalarla ortaya konulmuştur (1-3). Kistik meme hastalıkları



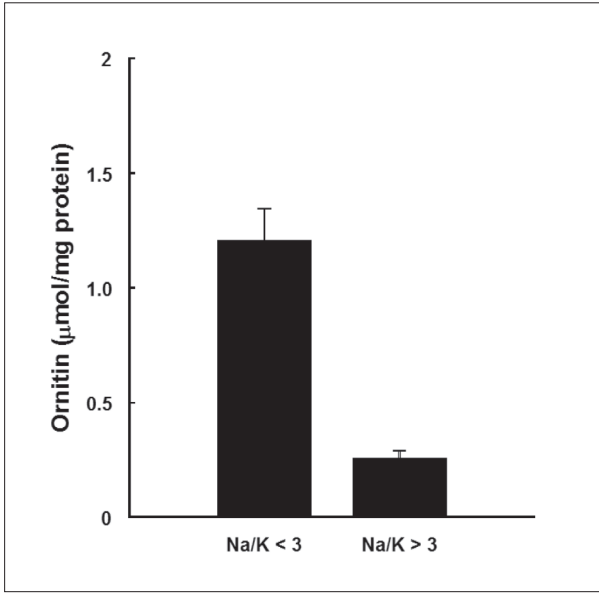
Şekil 1. Apokrin (Na/K <3) ve düz epitele (Na/K >3) sahip meme kist sıvılarında arginaz aktiviteleri. Apokrin kistler meme kanseri gelişimi yönünden daha yüksek riske sahip olarak gösterilmiştir. Arginaz enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak tiyosemi-karbazid diasetilmonoksim üre (TDMU) metodu ile ölçülmüştür. Karşılaştırmalar ise Mann Whitney U testi ile yapılmıştır (p <0.001).

Tablo 1. Meme kist sıvısı arginaz enzim aktivitesi, ornitin, üre, protein ve Na/K düzeyleri.

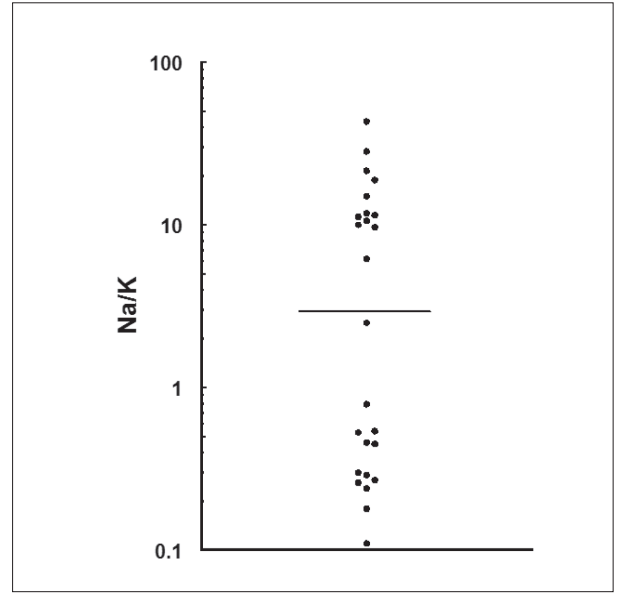
	Na/K <3 (n = 14)	Na/K >3 (n = 12)	p
	m ±SEM	m ±SEM	
Arginaz (U/mg protein)	5.79 ±1.17	1.02 ±0.27	<0.001
Ornitin (µmol/mg protein)	1.2 ±0.13	0.25 ±0.03	<0.001
Üre (µmol/ml)	1.6 ±0.36	0.28 ±0.08	<0.001
Protein (mg)	0.54 ±0.03	0.54 ±0.04	0.879
Na/K (mmol/L)	0.5 ±0.16	14.2 ±3.07	<0.001

Tablo 2. Meme kist sıvısı arginaz enzim aktivitesi, ornitin, üre, protein düzeyleri ile Na/K oranı arasındaki korelasyon değerleri.

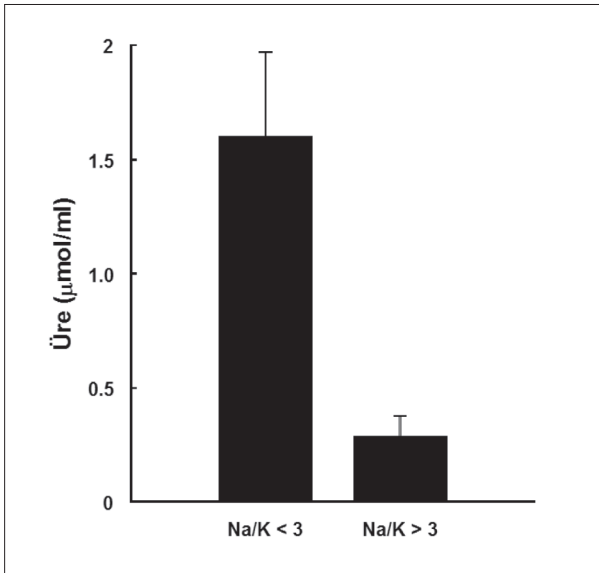
	Na/K <3 (n = 14)	Na/K >3 (n = 12)	Total (n = 26)
Arginaz <i>Vs</i> Ornitin	0.911	0.264	0.002
Arginaz <i>Vs</i> Üre	<0.001	<0.001	<0.001
Arginaz <i>Vs</i> Protein	0.737	0.625	0.581
Ornitin <i>Vs</i> Üre	0.563	0.105	0.003
Ornitin <i>Vs</i> Protein	0.006	0.090	0.677
Üre <i>Vs</i> Protein	0.350	0.136	0.161
Arginaz <i>Vs</i> Na/K	0.659	0.060	<0.001
Ornitin <i>Vs</i> Na/K	0.009	0.471	0.004
Üre <i>Vs</i> Na/K	0.573	0.140	<0.001
Protein <i>Vs</i> Na/K	0.032	0.863	0.343



Şekil 2. Apokrin (Na/K <3) ve düz epitele (Na/K >3) sahip meme kist sıvılarında ornitin düzeyleri. Apokrin kistler meme kanseri gelişimi yönünden daha yüksek riske sahip olarak gösterilmiştir. Ornitin düzeyleri spektrofotometrik olarak Chinard metoduna göre ölçülmüştür. Karşılaştırmalar ise Mann Whitney U testi ile yapılmıştır (p <0.001).



Şekil 4. Meme kist sıvısı Na/K oranları. Yapılan çalışmalarda Na ve K düzeyleri ile kist duvarlarının epitel yapısı arasında paralellik bulunmuştur. Kist sıvılarının Na/K oranlarına göre açık bir biçimde ikiye ayrıldığı gösterilmiştir. Na ve K düzeyleri iyon selektif elektrot yöntemi ile belirlenmiştir. Yatay çizgi "3" düzeyini göstermektedir.



Şekil 3. Apokrin (Na/K <3) ve düz epitele (Na/K >3) sahip meme kist sıvılarında üre düzeyleri. Apokrin kistler meme kanseri gelişimi yönünden daha yüksek riske sahip olarak gösterilmiştir. Üre düzeyleri spektrofotometrik olarak tiyosemikarbazid diasetilmonoksim üre (TDMU) metodu ile ölçülmüştür. Karşılaştırmalar ise Mann Whitney U testi ile yapılmıştır (p <0.001).

rından meme kanseri gelişimi yönünde olası risklerin kaynaklarını ve bu mekanizmayı açıklayabilmek için, meme kist sıvısı içeriğini inceleyen bir çok çalışma yapılmıştır. Bu yönde yapılan çalışmalarda, meme kist sıvısının yüksek oranda östradiol, dehidroepiandrosteron, östron-3-sülfat ve androstenodion gibi seks hormonları içerdiği ve epidermal büyüme faktörü, transforme edici

büyüme faktörü α gibi büyüme faktörleri barındırdığı saptanmıştır (21,22). Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda interlökin 1- β , IL-6 gibi sitokinler tespit edilmiştir (23). Kanser gelişimi ile yakından ilişkili olan tüm bu mitojenlerin özellikle apokrin, yüksek risk grubu, meme kistlerinde daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca epitelial hücre üremesini inhibe edici özelliği gösterilen transforme edici büyüme faktörü beta 1 ve 2 (TGF- $\beta_{1,2}$)'nin meme kanseri gelişimi yönünden daha az riske sahip olan düz epitel kistlerde yüksek konsantrasyonlarda var olduğu saptanmıştır (22).

Günümüzde olası bir düzenleyici enzim olan arginazla yapılan çalışmalarda artış vardır. Bu ilginin nedeni, arginazın nitrik oksit (NO), poliamin, agmatin, prolin ve glutamat sentezinde oynadığı olası rol olabilir. Arginaz enzimi, üre sentezindeki vazgeçilmez rolünün yanında, poliamin, prolin ve glutamat sentezi için ornitin üretimini de sağlar.

Poliaminlerin hızlı büyüyen hücre ve dokularda yüksek konsantrasyonlarda buldukları ve hücre büyümesi ve farklılaşması için gerekli oldukları gösterilmiştir (8). Büyüme ile ilişkili genler, örneğin; c-fos ve c-myc proto-onkojenleri hücrel çöğalma sürecinde aktive edilirler. Mitojenik uyarıyı takiben poliamin sentezinde eş zamanlı bir artış ve c-fos proto-onkojeninin transkripsiyonu gözlenmiştir. Benzer olarak habis dönüşüm poliamin sentezinde bir artışa neden olmaktadır. Poliaminlerin c-myc ve c-fos transkripsiyonunu artırdığı gösterilmiştir (24). Poliaminler bu yüzden büyüme süreci için gerekli maddeler olup aynı zamanda karsinogenezle de ilişkilidir (25). Biyolojik sıvılarda poliamin ölçümü, kanserlerin teşhisinde, kanser tedavisinin izlenmesinde ve yeniden nüksün değerlendirilmesinde yararlı bir araç olarak

kullanılmaktadır. Poliamin konsantrasyonlarının meme kanserinde de arttığı, tümör poliamin konsantrasyonları ile tümörün yeniden nüks etmesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu bulunmuştur (26).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, kalın barsak, kolorektal, prostat, mide ve küçük hücreli akciğer kanseri gibi çeşitli kanser vakalarında serum ve doku arginaz düzeyinin arttığı belirtilmekte ve arginazın kanser vakaları için belirleyici bir enzim olabileceği ileri sürülmektedir (10-15). Meme kanserli hastalarda yapılan çalışmalarda da serum arginaz aktivitesi, sağlıklı kadınlardakinden yüksek bulunmuştur (16,26). Dolayısı ile tüm bu çalışmalar arginaz enzimi ile kanser vakaları arasında yakın bir ilişkinin varlığını göstermektedir.

Bu çalışmada gösterilen, ve özellikle meme kanseri gelişimi yönünden yüksek risk grubunu oluşturan meme kist sıvısı içinde düşük risk grubuna göre yüksek bulunan arginaz aktivitesi ve ornitin düzeyleri, karsinojenik gelişimin poliamin metabolizması üzerinden olabileceğine işaret etmektedir. Tabii ki tüm süreç sadece bu mekanizma ile açıklanamaz. Fakat, poliamin sentezinin artması bu mekanizma içinde diğer mitojenik faktörlerin varlığında önemli bir etki yapabilir. Diğer taraftan, yüksek risk grubu kistlerde, düşük risk grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunan üre düzeylerinin bu süreç içindeki yeri henüz soru işaretleri taşımaktadır. Yine bu çalışmada gösterilen arginaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri ile Na/K oranları arasındaki anlamlı ilişki ilginç bir bulgu olabilir.

Arginaz enziminin üzerinde durulan diğer bir özelliği ise nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile ortak substrat olan arjinini kullanmasıdır (27). NOS etkisi ile arjininden nitrik oksit üretilmekte ve bu iki enzimin arjinini tüketmek için birbiriyle yarıştığı vurgulanmaktadır. Bu

yolla oluşan NO' nun kanser gelişimini arttırıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (28). Birbiri ile yarışma halinde olan bu iki enzimden biri olan arginaz enzim aktivitesinin artması, NOS enzimini baskılayarak üretimi ornitin lehine çevirebilir. Bu durum poliamin sentezini arttırırken, NO üretiminin azalmasına neden olacaktır. Sonuç olarak ise NO düzeyinin azalması karsinojenik süreci hızlandırabilecektir.

Poliaminlerin bir analogu olan agmatin'in ise daha önceleri bakteri, bitki ve omurgasızlarda bulunduğu bildirilmiş ancak son yıllarda memelilerde de bulunduğu gösterilmiştir (29). Agmatin'in, arjininden, arjinin dekarboksilaz varlığında sentezlendiği ve tümör hücrelerinde büyümeyi önleyici bir ajan olarak varlık gösterdiği vurgulanmıştır (30). Agmatin'in hücre çoğalmasını engelleyici bir ajan olması ve substrat olarak arjinini kullanması, bu maddenin üretiminin de artan arginaz enzim aktivitesi ile birlikte azalacağını akla getirmektedir. Bu durum yine tümör gelişimi yönünde etkiye neden olabilir. Meme kist sıvıları içinde agmatin konsantrasyonunun belirlenmesi bu alanda yapılacak çalışmalara dahil edilebilir.

Sonuç olarak meme kanseri yönünden yüksek riske sahip olan apokrin kist sıvılarında bulunan yüksek arginaz aktivitesi, kanser gelişimi yönünde pozitif bir ajan olarak gösterilen poliaminlerin sentezini doğrudan arttıracağı gibi, bu mekanizmaya ek olarak yarışma halinde olduğu NOS'a üstünlük sağlayarak daha az oranda NO sentezlenmesi ve yine benzer mekanizma ile daha az agmatin üretimine neden olabilecektir. Bu üçlü mekanizma sonucunda özellikle apokrin kiste sahip hastalarda dengenin meme kanseri yönünde kayması mümkün olabilir.

Kaynaklar

- [1] Harrington LE and Lesnick G. (1981) The association between gross cysts of the breast and breast cancer. *Breast* 7, 113-117.
- [2] Roberts MM, Jones V and Elton RA Fortt RW, Williams S, Gravelle IH. (1984) Risk of breast cancer in women with a history of benign disease of the breast. *BMJ*. 288 (6413), 275-8.
- [3] Dixon JM, McDonald C, Elton RA, Miller WR. (1999) Risk of breast cancer in women with palpable breast cysts: a prospective study. *Edinburgh Breast Group. Lancet* 22 (353), 1742-5.
- [4] Haagensen CD, Bodian C, Haagensen DE, Jr. (1981) Breast carcinoma risk and detection, s. 55-90, WB Saunders, Philadelphia.
- [5] Dixon JM, Lumsden AB, Miller WR. (1985) The relationship of cyst type to risk factors for breast cancer in patients with breast cystic disease. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 21, 1047-50.
- [6] Haagensen CD. (1986) Diseases of the breast. WB Saunders, Philadelphia.
- [7] Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD. (1996) Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 114, 107-32.
- [8] Wallace HM, Fraser AV, Hughes A. (2003) A perspective of polyamine metabolism. *Biochem J.* 376, 1-14.
- [9] Matthews HR. (1993) Polyamines, chromatin structure and transcription. *Bioessays.* 15 (8), 561-6.
- [10] Konarska L, Kolasa T, Albrecht P, Regula A. (1993) Can arginase be a marker of the large bowel neoplasia? *Acta Biochim Pol.* 40 (1), 164-6.
- [11] Leu SY, Wang SR. (1992) Clinical significance of arginase in colorectal cancer. *Cancer.* 70 (4), 733-6.
- [12] Harris BE, Pretlow TP, Bradley EL Jr, Whitehurst GB, Pretlow TG. (1983) Arginase activity in prostatic tissue of patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *Cancer Res.* 43 (6), 3008-12.
- [13] Loser C, Folsch UR, Paprotny C, Creutzfeldt W. (1990) Polyamine concentrations in pancreatic tissue, serum, and urine of patients with pancreatic cancer. *Pancreas* 5 (2), 119-27.
- [14] Wu CW, Chi CW, Lin EC, Lui WY, P'eng FK, Wang SR. (1994) Serum arginase level in patients with gastric cancer. *J Clin Gastroenterol.* 18 (1), 84-5.

- [15] Suer Gokmen S, Yoruk Y, Cakir E, Yorulmaz F, Gulen S. (1999) Arginase and ornithine, as markers in human non-small cell lung carcinoma. *Cancer Biochem Biophys.* 17, 125-31.
- [16] Poremska Z, Luboinski G, Chrzanowska A, Mielczarek M, Magnuska J, Baranczyk-Kuzma A. (2003) Arginase in patients with breast cancer. *Clin Chim Acta.* 328 (1-2), 105-11.
- [17] Bachrach U, Wang YC. (2002) Cancer therapy and prevention by green tea: role of ornithine decarboxylase. *Amino Acids* 22 (1), 1-13.
- [18] Geyer JW, Dabich D. (1986) Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem.* 39, 412-17.
- [19] Chinnard FP. (1952) Photometric estimation of proline and ornithine. *J Biol Chem.* 199, 91-95.
- [20] Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193, 265-75.
- [21] Lai LC, Ghatei MA, Takahashi K, Patel KV, Schrey MP, Ghilchik MW, Bloom SR and James VHT. (1990) Mitogenic peptides in breast cyst fluid: relationship with intracystic electrolyte ratios, *Int J cancer* 46, 1014-16.
- [22] Lai LC, Siraj AK, Erbas H and Lennard TWJ. (1994) Transforming growth factor alpha, beta 1 and beta 2 in breast cyst fluid. *Anticancer Res.* 14, 2805-10.
- [23] Reed MJ, Coldham NG, Patel SR, Ghilchik MW and James VHT. (1992). Interleukin-1 and interleukin-6 in breast cyst fluid: their role in regulating aromatase activity in breast cancer cells. *J. Endocrinol.* 132, R5-8.
- [24] Bachrach U, Wang YC, Tabib A. (2001) Polyamines: new cues in cellular signal transduction. *News Physiol Sci.* 16, 106-9.
- [25] Gugliucci A. (2004) Polyamines as clinical laboratory tools. *Clin Chim Acta.* 344 (1-2), 23-35.
- [26] Kingsnorth AN, Wallace HM, Bundred NJ, Dixon JM. (1984) Polyamines in breast cancer. *Br J Surg.* 71 (5), 352-6.
- [27] Grillo MA, Colombatto S. (2004) Arginine revisited: minireview article. *Amino Acids.* 26, 345-51.
- [28] Blantz RC, Satriano J, Gabbai F, Kelly C. (2000) Biological effects of arginine metabolites. *Acta Physiol Scand.* 168 (1), 21-5.
- [29] Raasch W, Regunathan S, Li G, Reis DJ. (1995) Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. *Life Sci.* 56, 2310-30.
- [30] Wang JF, Su RB, Wu N, Xu B, Lu XQ, Liu Y, Li J. (2005) Inhibitory effect of agmatine on proliferation of tumour cells by modulation of polyamine metabolism. *Acta Phar. Sinica* 26, 616-22.