

KLİNİK ÇALIŞMA

Akciğer Kanseri Hastalarda Eritrosit Arginaz Aktivitesi^[*]*Erythrocyte Arginase Activity in Lung Cancer Patients*

Selma SÜER GÖKMEN, Reyhan YILDIZ, Erhan TABAKOĞLU, Gündeniz ALTIAY, Ebru YAVUZ, Şendoğan GÜLEN

Amaç: Bu çalışmada, akciğer kanserli hastalarda kanda eritrosit arginaz aktivitesi ve hücre tipi ve ekstrapulmoner metastazın bu aktiviteye etkisi incelendi.

Hastalar ve Yöntemler: Çalışmaya akciğer kanserli 46 hasta (ort. yaş 63.1) ve sağlıklı 29 birey (ort. yaş 57.2) alındı. Eritrosit arginaz aktivitesi Geyer ve Dabich yöntemi ile ölçüldü. Ayrıca, küçük hücreli akciğer kanserli 15 hasta, küçük hücreli dışı akciğer kanserli 31 hasta, ekstrapulmoner metastazı olan 23 hasta ve metastazı olmayan 23 hastanın eritrosit arginaz aktiviteleri karşılaştırıldı.

Bulgular: Sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında, akciğer kanserli tüm hastaların ($p<0.01$), küçük hücreli akciğer kanserli hastaların ($p<0.05$), küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların ($p<0.01$), ekstrapulmoner metastazı olan ($p<0.01$) ve olmayan ($p<0.01$) hastaların eritrosit arginaz aktiviteleri anlamlı derecede yüksek bulundu. Öte yandan, küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalar arasında ve metastazı olan ve olmayan hastalar arasında eritrosit arginaz aktivitesi yönünden anlamlı farklılık görülmedi.

Sonuç: Akciğer kanserli hastalarda eritrosit arginaz aktivitesinde sağlıklılara göre anlamlı bir artış olduğunu; ancak, hücre tipi veya ekstrapulmoner metastazın bu artış üzerinde etkisi olmadığını söyleyebiliriz.

Anahtar Sözcükler: Arginaz/kan; akciğer kanseri, küçük hücreli dışı; akciğer kanseri, küçük hücreli; eritrosit/kan; akciğer neoplazileri; neoplazi metastazi.

Objectives: We investigated blood erythrocyte arginase activity in lung cancer patients and the effect of cell type and extrapulmonary metastasis on this activity.

Patients and Methods: The study included 46 lung cancer patients (mean age 63.1 years) and 29 healthy subjects (mean age 57.2 years). Erythrocyte arginase activity was determined with the use of the Geyer-Dabich method. Erythrocyte arginase activity was compared between patients with small cell lung cancer ($n=15$), non-small cell lung cancer ($n=31$), extrapulmonary metastases ($n=23$), and no metastasis ($n=23$).

Results: Compared to healthy controls, erythrocyte arginase activity was significantly increased in all lung cancer patients ($p<0.01$), and in patient groups with small cell lung cancer ($p<0.05$), non-small cell lung cancer ($p<0.01$), extrapulmonary metastases ($p<0.01$), and no metastasis ($p<0.01$). On the other hand, erythrocyte arginase activity did not differ significantly between patients with small cell lung cancer and non-small cell lung cancer, and between patients with and without extrapulmonary metastases.

Conclusion: Our data suggest that, compared to healthy subjects, erythrocyte arginase activity is significantly increased in lung cancer patients, with no additional effect of cell type or extrapulmonary metastases.

Key Words: Arginase/blood; carcinoma, non-small-cell lung; carcinoma, small cell; erythrocytes/blood; lung neoplasms/blood; neoplasm metastasis.

Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2005;22(2):76-81

*XXIII. World Congress of Pathology and Laboratory Medicine'de kısmen sunulmuştur (26-30 Mayıs 2005, İstanbul).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı (Süer Gökmen, Doç. Dr.; Yıldız, Kimyager; Gülen, Prof. Dr.), Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı (Tabakoğlu, Doç. Dr.; Altıay, Yrd. Doç. Dr.), Biyoistatistik Anabilim Dalı (Yavuz, Araş. Gör.).

İletişim adresi: Dr. Selma Süer Gökmen, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 22030 Edirne.

Tel: 0284 - 235 76 42 / 1618 Faks: 0284 - 235 15 64 e-posta: selmasuer@hotmail.com

Üre siklusunun son enzimi olan arginaz (L-arginin amidinohidrolaz; EC 3. 5. 3. 1) memeli karaciğerinde amonyağın zehirsizleştirilmesinden sorumludur.^[1] Enzim başlıca karaciğerde bulunmakla birlikte, böbrek, beyin, bağırsak, meme bezi, eritrosit, deri ve laktasyondaki meme bezi ve makrofajlarda da aktivitesine rastlanır.^[2-7] Tüm memeli hücrelerinde bulunan putresin, spermidin ve spermin hücre büyümesi için gerekli olan, transkripsiyon, translasyon ve protein sentezinin başlamasını kolaylaştıran alifatik poliaminlerdir.^[8,9] Poliaminlerin sentezindeki ilk reaksiyon arginaz tarafından katalizlenen argininin ornitine dönüşümüdür. Ornitinden putresin'in sentezi ise anahtar enzim olan ornitin dekarboksilaz tarafından katalizlenir.^[10,11] Üre siklusunun fonksiyon görmediği karaciğer dışı memeli dokularında arginazın poliamin biyosentezinin öncül maddesi olan ornitini hücrelere sağladığına inanılır.^[11,12]

Neoplastik gelişim sırasında poliamin biyosentezinin regülasyonu önemli değişikliklere uğrar. Ornitin dekarboksilaz aktivitesinin karsinogenezde arttığı^[13-16] ve enzimin ekspresyonundaki artışın premalignant epidermal hücrelerde tümör gelişimini artırdığı bildirilmiştir.^[13] Arginaz aktivitesinin ise prostat kanseri,^[17,18] mide kanseri,^[19] kolorektal kanser,^[20,21] kronik lenfositik lösemi,^[22] meme kanseri^[23,24] ve deri kanserinde^[25] arttığı bildirilmiştir. Daha önce bizim bir çalışmamızda da akciğer kanserli hastaların doku arginaz aktivitesinde bir artış olduğu bildirilmiştir.^[26]

Günümüzde çok önemli bir sorun haline gelen akciğer kanseri genel olarak küçük hücreli ve küçük hücreli dışı olmak üzere sınıflandırılır. Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin %35-71'i skuamöz hücre, %9-29'u adenokarsinom ve %3-16'sı büyük hücreli karsinomdur. Küçük hücreli kanser olguların %12-25'ini oluşturur, bu tümörler çok erken hilar ve mediastinal lenf nodüllerine metastaz yapar ve kan damarları ile kolayca yayılır. Skuamöz hücre kanserinde, tümör genellikle majör bronшта polypoid veya sessile bir kitle olarak gelişir ve sıklıkla da hava yolu lümenini tıkar. Akciğer adenokarsinomları genelde periferik parenkimal kitle olarak gelişir,

gelişimlerinin erken safhasında kan ve lenfe geçer, sıklıkla da primer lezyon semptomlara yol açmadan önce metastaz yapar.^[27] Literatürde çeşitli kanser tiplerindeki serum veya doku arginaz aktivitesini inceleyen çalışmalar bulunmasına rağmen, akciğer kanserli hastalarda eritrosit arginaz aktivitesini ve bu aktiviteye hücre tipi ya da ekstrapulmoner metastazın etkisini inceleyen bir yayına rastlayamadık.

Bu çalışmada;

1. Akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktivitelerinde bir değişikliğin olup olmadığını,
2. Küçük hücreli akciğer kanserli hastalar ile küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktivitesi yönünden farklılık gösterip göstermediğini,
3. Ekstrapulmoner metastazı olan hastalar ile metastazı olmayan hastaların eritrosit arginaz aktivitesi yönünden farklılık gösterip göstermediğini incelemek amaçlandı.

HASTALAR VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Fakültemizin Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından akciğer kanseri teşhisi konulmuş ve henüz hiç kemoterapi ve/veya radyoterapi almamış 46 hasta (42 erkek, 4 kadın; ort. yaş 63.1; dağılım 46-81) ve 29 sağlıklı birey (20 erkek, 9 kadın; ort. yaş 57.2; dağılım 44-83) dahil edildi. Olgu grubu 15 küçük hücreli ve 31 küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastadan oluşmaktaydı. Akciğer kanserli hastaların ayrıca 23'ünde ekstrapulmoner metastaz bulunmaktaydı.

Hastalardan elde edilen heparinize kan örnekleri 1100 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüjlenecek plazması uzaklaştırıldı. Eritrositler, 2 volüm %0.9'luk NaCl ile iki kez yıkandı. Süpernatant uzaklaştırılarak, eritrositler 2.5 mM MnCl₂ ile orijinal hacme tamamlandı. Elde edilen hemolizat +4 °C'de saklanarak üç gün içinde kullanıldı.

Arginaz aktivitesi Geyer ve Dabich metodu kullanılarak saptandı.^[28] Bir arginaz ünitesi, 37 °C'de bir dakikada 1 µmol üre serbestleştiren enzim miktarı olarak tanımlandı ve hemoglobine oranlanarak verildi. Verilerin analizinde bağımsız örneklerde t-testi kullanıldı.

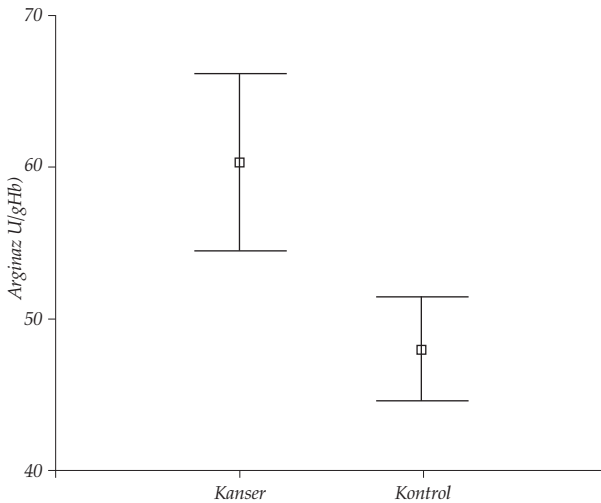
Tablo 1. Akciğer kanserli hastaların ve kontrol grubunun eritrosit arginaz aktiviteleri

Grup	Sayı	Ort±SD	Arginaz (U/L)	
			Min-Max	Median [#]
Akciğer kanseri	46	58.11±13.49*	40.15-93.68	55.24 (48.91/62.19)
Küçük hücreli	15	61.45±16.96**	40.93-93.68	55.81 (51.69/78.93)
Küçük hücreli dışı	31	56.49±11.43*	40.15-82.88	54.56 (47.75/62.01)
Metastazı olan	23	58.20±13.24*	40.31-93.68	54.56 (50.67/62.01)
Metastazı olmayan	23	58.01±14.04*	40.15-90.18	57.22 (47.06/62.71)
Kontrol	29	48.01±9.13	28.88-63.11	49.98 (43.69/53.85)

*: p<0.01; **: p<0.05; #: (25/75) Persantil.

BULGULAR

Akciğer kanserli hastaların ve kontrol grubunun eritrosit arginaz aktiviteleri Tablo 1’de görülmektedir. Akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p<0.01) (Şekil 1). Küçük hücreli akciğer kanserli hastaların (p<0.05) ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların (p<0.01) eritrosit arginaz aktiviteleri de kontrol grubuna göre yine daha yüksek bulundu (Şekil 2). Ancak bu iki hasta grubunun eritrosit arginaz aktiviteleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05). Hasta grubu ekstrapulmoner metastazın varlığına göre iki alt gruba ayrıldığında, metastazı olan ve olmayan hastaların eritrosit arginaz aktiviteleri kontrol gru-



Şekil 1. Akciğer kanserli hastaların ve kontrol grubunun eritrosit arginaz aktivitelerinin karşılaştırılması.

buna göre daha yüksekti (her iki grup için de p<0.01) (Şekil 3). Bununla birlikte ekstrapulmoner metastazı olan ve olmayan hastaların eritrosit arginaz aktiviteleri yönünden bir fark saptanmadı (p>0.05).

TARTIŞMA

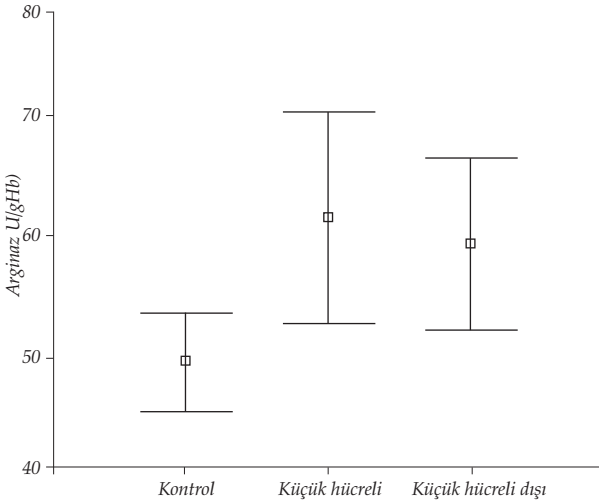
Arginin’in üre ve ornitine hidrolizini katalizleyen arginaz için memelilerde iki farklı gen bulunmuştur.^[1] Sitosolik bir enzim olan A I ve mitokondriyal form A II, Arginaz A I’in üre siklusunun son basamağında önemli rol oynadığı, oysa arginaz A II’nin glutamik asit, prolin ve poliamin biyosentezi için ornitin sağladığı bildirilmiştir.^[18,29,30]

Poliamin metabolizmasındaki bozuklukların, hücrelerin neoplastik gelişiminde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür.^[31,32] Ornitin’in poliaminlerin öncül maddesi olan putresine dönüşümünü katalizleyen ornitin dekarboksilaz aktivitesinin, normal çoğalan hücrelerde^[33] ve neoplastik transformasyonda^[11,31,32] arttığı bildirilmiştir. Poliaminlerin tüketilmesinin in vitro ve hayvan modellerinde neoplastik hücre büyümesini inhibe ettiği, poliamin biyosentezinin inhibitörlerinin tümör büyümesini bloke edebildiği ve metastazı önleyebildiği ileri sürülmüştür.^[34]

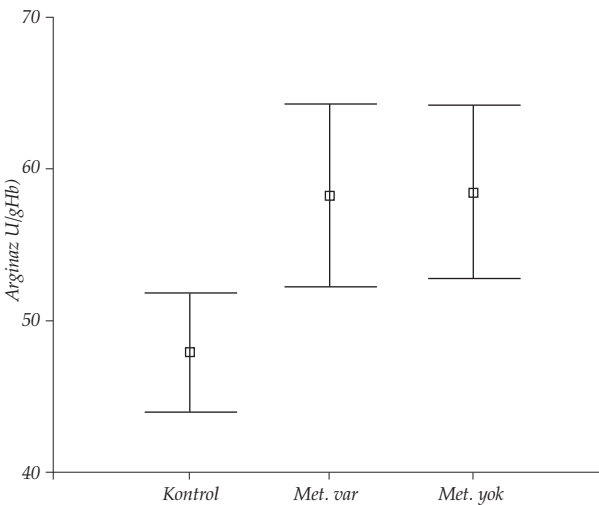
Arginaz aktivitesinin de psoriasis gibi bazı cilt hastalıklarında, hiperkeratinizasyonda,^[4,6,35] gebelikte ve laktasyonda^[36] arttığı bildirilmiştir. Ayrıca prostat kanseri, mide kanseri, kolorektal kanser, kronik lenfositik lösemi, meme kanseri ve deri kanserinde arginaz aktivitesinde bir artış olduğu bildirilmiştir.^[17-25] Bu çalışmaları des-

tekler şekilde bizim çalışmamızda da akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktiviteleri sağlıklılara göre daha yüksek saptandı ($p<0.01$).

Daha önceki çalışmalarımızda küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda doku arginaz aktivitesi ve ornitin düzeylerinde bir artış olduğunu bildirmiştik.^[26,37] Benzer şekilde Rodriguez ve ark.^[38] tarafından da küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların tümör örneklerinde arginaz I düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda akciğer kanserli hastalar küçük



Şekil 2. Küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların ve kontrol grubunun eritrosit arginaz aktivitelerinin karşılaştırılması.



Şekil 3. Metastazı olan ve olmayan akciğer kanserli hastaların ve kontrol grubunun eritrosit arginaz aktivitelerinin karşılaştırılması.

hücreli ve küçük hücreli dışı olmak üzere iki gruba ayrılarak, hücre tipinin, eritrosit arginaz aktivitesine etkisi araştırıldı. Küçük hücreli akciğer kanserli hastaların ($p<0.05$) ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların ($p<0.01$) eritrosit arginaz aktivitesi sağlıklılara göre daha yüksek saptandı. Bununla birlikte bu iki hasta grubu arasında eritrosit arginaz aktiviteleri yönünden bir anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Son yıllarda solid tümörlerin tanısı ve tedavisindeki olumlu ilerlemelere rağmen, metastaz gelişimi kanser hastaları için en önemli sorun ve ölüm nedeni olmaya devam etmektedir. Tümör saldırganlığının saptanması ve kanser hastasının izlenmesi gittikçe önem kazanmaktadır.^[39] Çalışmamızda akciğer kanserli hastalar, ekstrapulmoner metastazın varlığına göre de iki farklı gruba ayrılarak metastazın eritrosit arginaz aktivitesine etkisi araştırıldı. Ekstrapulmoner metastazı olan ve olmayan akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktiviteleri sağlıklılardan anlamlı olarak daha yüksek (her ikisi için de $p<0.01$) bulundu. Bu bulgu serum arginaz aktivitesinin primer kolorektal kanserli hastalarda ve karaciğere metastazı olan kolorektal kanserli hastalarda sağlıklılara göre daha yüksek olduğunu bildiren Porembaska ve ark.nın^[40] çalışması ile tutarlıdır.

Bununla birlikte çalışmamızda ekstrapulmoner metastazı olan ve olmayan akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktiviteleri yönünden anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Oysa Margalit ve ark.^[41] primer tümör ile karşılaştırıldığında pulmoner metastazda, arginaz da dahil bir seri genin ekspresyonunda bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Porembaska ve ark.^[42] ise serum arginaz tayininin kolorektal karaciğer metastazının erken teşhisinde CEA ve Ca19-9'dan daha yüksek bir klinik değere sahip olduğunu göstermişlerdir.

Sonuç olarak;

1. Akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktivitesinde bir artış olduğunu,
2. Küçük hücreli ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktivitesinde sağlıklılara göre bir artış olmasına rağmen, iki hasta grubu arasında bir fark bulunmadığını,

3. Ekstrapulmoner metastazı olan ve olmayan akciğer kanserli hastaların eritrosit arginaz aktivitesinde bir artışın bulunduğunu ancak iki hasta grubu arasında bir fark bulunmadığını söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

- Beruter J, Colombo JP, Bachmann C. Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes. *Biochem J* 1978;175:449-54.
- Colombo JP, Konarska L. Arginase. In: *Methods of enzymatic analysis*. Bergmeyer HU, editor. 1st ed. Verlag Chemie: Basel Weinheim Dearfield Beach; 1984. p. 285-94.
- Straus B, Borcic O. Inhibitory action of some amino acids on arginase from human liver, kidney, mammary gland and erythrocytes. *Acta Pharm Jugosl* 1976;26:149-53.
- Redmond AF, Rothberg S. Arginase activity and other cellular events associated with epidermal hyperplasia. *J Cell Physiol* 1978;94:99-104.
- Box VL, Brown VK. Comparison of the arginase activities of skin from some mammalian species. *Comp Biochem Physiol B* 1973;46:847-50.
- Yip MC, Knox WE. Function of arginase in lactating mammary gland. *Biochem J* 1972;127:893-9.
- Currie GA. Activated macrophages kill tumour cells by releasing arginase. *Nature* 1978;273:758-9.
- Tabor CW, Tabor H. Polyamines. *Annu Rev Biochem* 1984;53:749-90.
- Morgan DM. Polyamines. *Essays Biochem* 1987;23:82-115.
- Pegg AE. Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem J* 1986;234:249-62.
- Pegg AE, McCann PP. Polyamine metabolism and function. *Am J Physiol* 1982;243:212-21.
- Heby O. Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation. *Differentiation* 1981;19:1-20.
- Clifford A, Morgan D, Yuspa SH, Soler AP, Gilmour S. Role of ornithine decarboxylase in epidermal tumorigenesis. *Cancer Res* 1995;55:1680-6.
- Canizares F, Salinas J, de las Heras M, Diaz J, Tovar I, Martinez P, et al. Prognostic value of ornithine decarboxylase and polyamines in human breast cancer: correlation with clinicopathologic parameters. *Clin Cancer Res* 1999;5:2035-41.
- Mafune K, Tanaka Y, Mimori K, Mori M, Takubo K, Makuuchi M, et al. Increased expression of ornithine decarboxylase messenger RNA in human esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999;5:4073-8.
- Patchett SE, Alstead EM, Butruk L, Przytulski K, Farthing MJ. Ornithine decarboxylase as a marker for premalignancy in the stomach. *Gut* 1995;37:13-6.
- Elgun S, Keskinoglu A, Yilmaz E, Baltaci S, Beduk Y. Evaluation of serum arginase activity in benign prostatic hypertrophy and prostatic cancer. *Int Urol Nephrol* 1999;31:95-9.
- Harris BE, Pretlow TP, Bradley EL Jr, Whitehurst GB, Pretlow TG 2nd. Arginase activity in prostatic tissue of patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *Cancer Res* 1983;43:3008-12.
- Wu CW, Chi CW, Lin EC, Lui WY, P'eng FK, Wang SR, et al. Serum arginase level in patients with gastric cancer. *J Clin Gastroenterol* 1994;18:84-5.
- Leu SY, Wang SR. Clinical significance of arginase in colorectal cancer. *Cancer* 1992;70:733-6.
- del Ara RM, Gonzalez-Polo RA, Caro A, del Amo E, Palomo L, Hernandez E, et al. Diagnostic performance of arginase activity in colorectal cancer. *Clin Exp Med* 2002;2:53-7.
- Konarska L, Widzyska I, Zienkiewicz H, Sulek K. Arginase activity alterations in peripheral blood lymphocytes in the human chronic lymphocytic leukemia. *Acta Biochim Pol* 1993;40:160-3.
- Porembska Z, Luboinski G, Chrzanowska A, Mielczarek M, Magnuska J, Baranczyk-Kuzma A, et al. Arginase in patients with breast cancer. *Clin Chim Acta* 2003;328:105-11.
- Straus B, Cepelak I, Festa G. Arginase, a new marker of mammary carcinoma. *Clin Chim Acta* 1992;210:5-12.
- Gokmen SS, Aygit AC, Ayhan MS, Yorulmaz F, Gulen S. Significance of arginase and ornithine in malignant tumors of the human skin. *J Lab Clin Med* 2001;137:340-4.
- Gokmen SS, Yoruk Y, Yorulmaz F, Gulen S. Küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda doku arginaz aktivitesi. *T.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 1999;16: 9-12.
- Prager D, Cameron R, Ford J, Figlin R. Bronchogenic carcinoma. In: Murray JF, Nadel JA, Mason RJ, Boushey HA, editors. *Textbook of Respiratory Medicine*. Vol 2, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. p. 1415-51.
- Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem* 1971;39:412-7.
- Ohtake A, Takiguchi M, Shigeto Y, Amaya Y, Kawamoto S, Mori M, et al. Structural organization of the gene for rat liver-type arginase. *J Biol Chem* 1988;263:2245-9.
- Gotoh T, Araki M, Mori M. Chromosomal localization of the human arginase II gene and tissue distribution of its mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;233:487-91.
- Scalabrino G, Ferioli ME. Polyamines in mammalian tumors. Part I. *Adv Cancer Res* 1981;35:151-268.
- Scalabrino G, Ferioli ME. Polyamines in mammalian tumors. Part II. *Adv Cancer Res* 1982;36:1-102.
- Janne J, Poso H, Raina A. Polyamines in rapid growth and cancer. *Biochim Biophys Acta* 1978;473:241-93.
- Tutton PJ, Barkla DH. Comparison of the effects of an ornithine decarboxylase inhibitor on the intestinal epithelium and on intestinal tumors. *Cancer Res* 1986;46(12 Pt 1):6091-4.
- Rothberg S, Van Scott EJ. Evaluation of arginase activity in normal epidermal tissue and pathological stratum corneum. *J Invest Dermatol* 1958;31:263-8.

36. Remesar X, Arola L, Palou A, Alemany M. Arginase activity during pregnancy and lactation. *Horm Metab Res* 1984;16:468-70.
37. Suer Gokmen S, Yoruk Y, Cakir E, Yorulmaz F, Gulen S. Arginase and ornithine, as markers in human non-small cell lung carcinoma. *Cancer Biochem Biophys* 1999;17:125-31.
38. Rodriguez PC, Quiceno DG, Zabaleta J, Ortiz B, Zea AH, Piazuelo MB, et al. Arginase I production in the tumor microenvironment by mature myeloid cells inhibits T-cell receptor expression and antigen-specific T-cell responses. *Cancer Res* 2004;64:5839-49.
39. Wu JT. Diagnosis and management of cancer using serologic tumor markers. In: Henry JB, editor. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 19th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1966. p. 1064-80.
40. Poremska Z, Skwarek A, Mielczarek M, Baranczyk-Kuzma A. Serum arginase activity in postsurgical monitoring of patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 2002;94:2930-4.
41. Margalit O, Eisenbach L, Amariglio N, Kaminski N, Harmelin A, Pfeffer R, et al. Overexpression of a set of genes, including WISP-1, common to pulmonary metastases of both mouse D122 Lewis lung carcinoma and B16-F10.9 melanoma cell lines. *Br J Cancer* 2003;89:314-9.
42. Poremska Z, Skwarek A, Chrzanowska A, Mielczarek M, Nyckowski P, Baranczyk-Kuzma A, et al. Arginase as a marker of cancerogenesis. III. Comparison of arginase activity with CEA and Ca 19-9 in liver metastases of colorectal cancer. *Pol Merkuriusz Lek* 2004;16:31-3. [Abstract]