



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2009; 23 (2): 73 - 78
http://www.fusabil.org

Mehtap ÖZÇELİK¹
Necmi ÖZDEMİR²

¹Veteriner Kontrol ve
Araştırma Enstitüsü,
Elazığ, TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

L- Lizin ve L- Ornitin Manda Karaciğer ve Böbrek Doku Arginazı Üzerine Etkisi*

Bu çalışmada L- ornitin ile L- lizin manda karaciğer ve böbrek doku arginazını farklı konsantrasyonlarda inhibe ettiği ortaya konulmuştur. L- ornitin 20 mM konsantrasyonunda karaciğer doku arginazını %60, böbrek doku arginazını ise %39'ını inhibe ederken 80 mM'lık konsantrasyonda ise karaciğer doku arginazını %89, böbrek doku arginazını %86 oranında inhibe ettiği görülmüştür. Diğer taraftan, 20 mM'lık L- lizin karaciğer doku arginazını %47 inhibe ederken böbrek doku arginazını %41 oranında inhibisyona uğratmıştır. 80 mM'lık L-lizin denendiğinde karaciğer doku arginazını %81, böbrek doku arginazını %79 inhibisyona uğrattığı saptanmıştır. Farklı substrat konsantrasyonlarında karaciğer dokusu 20 mM L- arginin konsantrasyonundan sonra doyuma ulaşırken böbrek dokusu 50 mM'dan sonra doyuma erişmiştir. Karaciğer 2,4 mM, böbrekte ise 8 mM olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre 50 mM L- ornitin ve L- lizin ilavesiyle farklı substrat konsantrasyonlarında manda karaciğer ve böbrek dokusunda arginaz Km'lerinin de farklı olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak; L- ornitin ve L- lizin, manda karaciğer ve böbrek doku arginazının farklı oranlarda inhibisyonuna neden olduğu görülmüştür. L- ornitin ve L- lizin amino asitleri manda karaciğer ve böbrek doku arginazını karışık tipte (kompetatif- nonkompetatif) inhibe ettiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Arginaz, Lizin, Ornitin.

Effect of L- Lysine and L- Ornithine on Buffalo Liver and Kidney Tissue Arginase

In this study, at different concentrations, L- ornithine and L- lysine were demonstrated to be inhibited arginase activity levels in buffalo liver and kidney tissue. At 20 mM concentration, L- ornithine inhibited liver tissue arginase and kidney tissue arginase by 60 and 39% respectively. Whereas at 80 mM inhibitory effect of L- ornithine were found 89 % and 86 % in liver and kidney tissue arginases, respectively. On the other hand, L- lysine at 20 mM concentration was determined to inhibit liver and kidney tissue arginase activity levels by 47 % and 41 % , respectively. When effect of higher concentration (80 mM) of L- lysine was examined, it was determined that inhibition of liver and kidney tissue arginases were 81 % and 79 % , respectively. With different substrates, liver tissue was saturated after 20 mM L- arginine whereas kidney tissue was saturated after 50 mM of L- arginine. Based on these results , when 50 mM L- ornithine and L- lysine were added at different substrate concentrations, Km of buffalo arginase was determined to be different at liver (2.4 mM) and kidney (8 mM) tissues.

In conclusion, arginase activity levels in liver and kidney tissue were determined to be inhibited differently. Arginase activity in Buffalo liver and kidney tissue arginases were demonstrated to be inhibited via mixed inhibition (competitive- non competitive) by L- ornithine and L- lysine.

Key Words: Arginase, Lysine, Ornithine.

Geliş Tarihi : 12.06.2008
Kabul Tarihi : 15.04.2009

Giriş

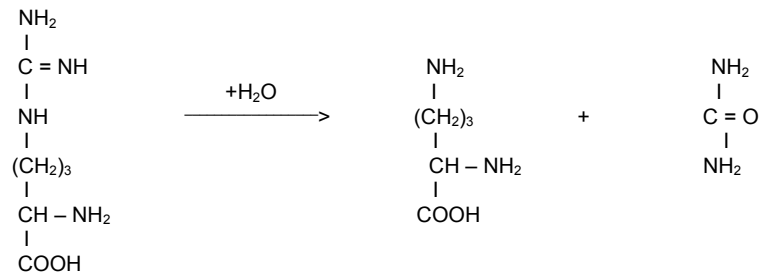
Arginaz enzimi (L- arginin amidinohidrolaz, E.C. 3.5.3.1), ilk defa 1904 yılında Kossel ve Dakin tarafından keşfedilen sیتoplazmik enzim olup üre döngüsünün son basamağında L-arginini, üre ve ornitine hidrolize eder (1).

Yazışma Adresi
Correspondence

Mehtap ÖZÇELİK

Veteriner Kontrol ve
Araştırma Enstitüsü,
ELAZIĞ - TÜRKİYE

mehtapyo@hotmail.com



Arginin

Ornitin

ÜRE

* İkibinli Yıllarda Biyokimya Sempozyumu, 2002 İZMİR

Enzimin esas yeri karaciğer olup, kırmızı kan hücreleri (2), böbrek (3, 4), laktasyondaki meme bezi (5), beyin (6) gibi birçok ekstrahepatik dokularda da bulunmaktadır. Esas fonksiyonu üre döngüsüne katılmaktır. Bunun yanında üre döngüsü bulunmayan ekstrahepatik dokularda ise protein sentezinde rol alan prolinin sentezlenmesinde (3, 6, 7) ve poliaminlerin sentezlenmesi için gerekli ornitinin üretiminde (7, 8), ayrıca immün cevap oluşumunda, tümör biyolojisinde de rol oynadığı saptanmıştır (9).

Arginaz enziminin tam aktivite gösterebilmesi için Mn^{+2} iyonları gereklidir (2). Mn^{++} iyonları arginazın tetramer yapı kazanarak inhibitörlere karşı daha stabil hale gelmesini sağlamaktadır (10, 11).

Bazı amino asitlerin arginaz enzimini inhibe ettiği bilinmektedir. Bundan dolayı bu amino asitlerden L-lizin ve L-ornitin manda karaciğer ve böbrek doku arginazı üzerine inhibisyon etkileri ve kinetik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırmada kullanılan materyaller Elazığ Elkas Kesimevi'nde kesilen aynı fiziksel özelliklere ve beslenme özelliklerine sahip 3-4 yaşlarındaki 11 mandadan alınan karaciğer ve böbrek dokusu olup, bu dokular % 0,9'luk NaCl içinde en kısa zamanda laboratuara getirilmiştir.

Alınan dokular iki süzgeç kağıdı arasında kurutulduktan sonra $MnCl_2$ (1/ 10, w/ v) ile sulandırılarak Potter- Elvenjam cam- cam homojenizatörde homojenize edilip homojenatlar soğutmalı santrifüjde (Sorvall RC-5B) 16000xg'de 15 dakika santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra üste kalan süpernatant alınarak enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

Enzim aktivitesi Tiyosemicarbazid- Dasetilmonoxim-Üre (TDMU) Metodu ile yapılmıştır (12).

Enzim kaynakları 2,5 mM'lık $MnCl_2$ ile reaksiyona sokularak, 55°C'de 10 dakika preinkübasyona tabi tutulmuştur. L-argininden 0,3 ml (pH 9,7), karbonat tamponundan (pH 9,7) 0,4 ml ve 0,3 ml enzim kaynağı konularak 37°C'de 10 dakika sallantılı su banyosunda inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra 3 ml asit ayırıcı ilave edilip reaksiyon durdurularak üzerine 2 ml renk ayırıcı ilave edilip 10 dakika kaynar su hamamında bekletilmiştir. 520 nm (UV/ Vis- Spectro- Shimadzu UV-240) dalga boyunda örneklerin absorbanslarından sıfır zaman körlerinin absorbansları (zero time blank) çıkarıldıktan sonra üre miktarları değerlendirilmiştir.

Protein miktarının ölçümü ise Biüret Metodu ile saptanmıştır (13).

ÜNİTE: Proteinin (1mg) 1 saatte oluşturduğu üre miktarının μ mol cinsinden ifadesidir (μ mol üre/ mg protein x saat).

Bulgular

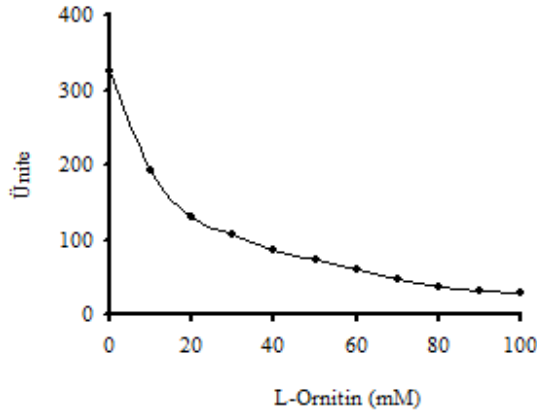
Manda karaciğer ve böbrek doku arginazlarının L-lizin ve L-ornitin varlığında kinetik özellikleri araştırılmıştır. 100 mM'a kadar değişen konsantrasyonlarda L-lizin ve L-ornitin kullanılarak inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Buna göre, manda karaciğer ve böbrek dokusu, farklı konsantrasyonlarda L-ornitin ve L-lizin ile reaksiyona sokulduğunda arginaz aktivitesini kuvvetli şekilde inhibe ettiği görülmüştür (Şekil 1, 2, 3, 4). L- ornitin ile L- lizin manda karaciğer ve böbrek doku arginazını farklı konsantrasyonlarda inhibe ettiği ortaya konulmuştur. 20 mM L-ornitin konsantrasyonunda karaciğer doku arginazını %60, böbrek doku arginazını %39 inhibe ederken; 80 mM'lık konsantrasyonunda ise karaciğer doku arginazını %89, böbrek doku arginazını %86 oranında inhibe ettiği görülmüştür (Şekil 1, 2). Bunun yanında L-lizinin inhibisyon etkileri de araştırılmıştır. 20 mM'lık L-lizin karaciğer doku arginazını %47, böbrek doku arginazını da %41 oranında inhibe ettiği bulunmuştur. 80 mM'lık L-lizin denendiğinde, karaciğer doku arginazını %81, böbrek doku arginazını ise %79 inhibisyona uğrattığı saptanmıştır (Şekil 3, 4).

L- ornitin ve L- lizinin inhibisyon etkisi bulunduktan sonra farklı substrat konsantrasyonlarda ve L-lizin ile L-ornitin varlığında manda karaciğer ve böbrek doku arginazının ilişkisini Michaelis- Menten eşitliğine göre araştırılmıştır (Şekil 5, 6, 7, 8). L- ornitin ve L- lizin 50 mM'lık konsantrasyonlarda kullanılarak manda karaciğer ile böbrek dokularındaki inhibisyon tipi belirlenmiştir. Bu çalışmayla karaciğer dokusunun substratla (L-arginin) doyumunu yaklaşık 20 mM ile başlarken böbrek dokusunda 50 mM konsantrasyonda doyuma ulaştığı görülmüştür. Michaelis- Menten grafiğinde bulunan değer Lineweaver-Burk eğrisine dökülerek Km değerleri tespit edilmiştir (Şekil 9, 10, 11, 12). Buna göre kontrollerin karaciğer dokusunda Km değeri 2,4 mM bulunmasına karşılık , L-ornitin ilave edildiğinde 8,3 mM; L- lizin ilave edildiğinde ise 9,1 mM olarak bulunmuştur. Böbrek için Km değerleri de saptanmıştır. Buna göre kontrol için Km değeri yaklaşık 8 mM civarında bulunurken, L- ornitin ilave edilmesiyle 14 mM, L- lizinin ilave edilmesiyle de 13 mM olarak saptanmıştır. Bulunan Km'ler doğrultusunda L- lizin ve L- ornitin amino asitleri manda karaciğer ve böbrek doku arginaz enzimlerini karışık tipte (kompetatif-nonkompetatif inhibisyon) inhibe etmiştir.

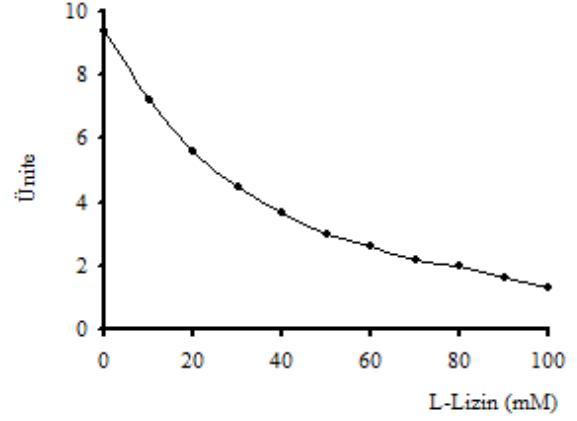
Tartışma

Bazı amino asitlerin arginaz enzimini inhibe ettiği araştırmacılar tarafından ortaya koyulmuştur. Bu amino asitlerden ornitin, sistein, lizin, lösin, izölösin (3, 10, 14, 15), prolin (3, 14), hidroxiprolin, homoarginin (2) inhibisyon etkileri saptanmıştır.

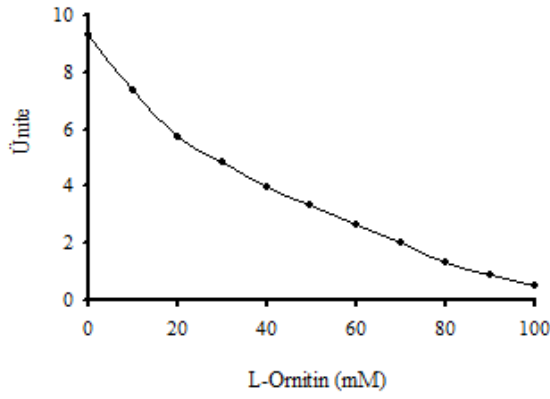
Muszynska ve Wojtczak (16), amino asitlerin ligand olduğunu, bu ligandın arginaza bağlanmasıyla enzimi konformasyonel değişime uğrattığı ve bununla enzim-substrat kompleksinin turnover'ını bozduğunu belirtmişlerdir.



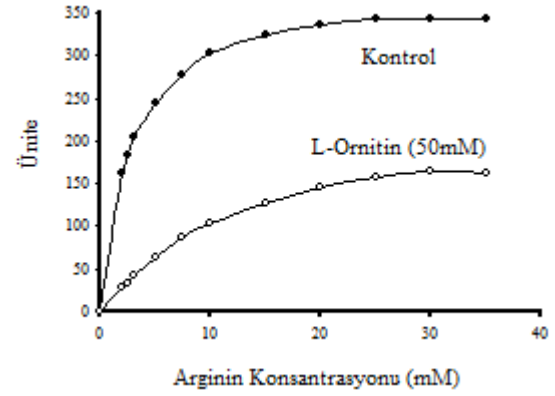
Şekil 1: L- ornitinin manda karaciğer doku arginazı üzerine inhibisyon etkisi.



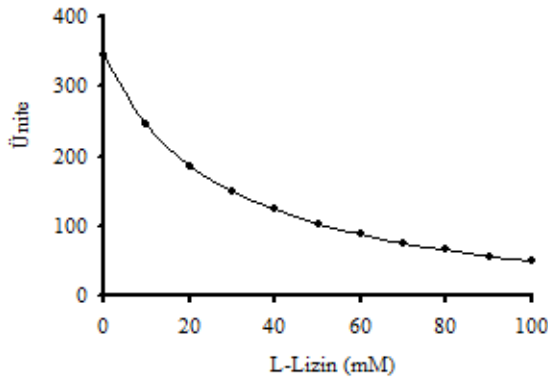
Şekil 4: L- lizin manda böbrek doku arginazı üzerine inhibisyon etkisi.



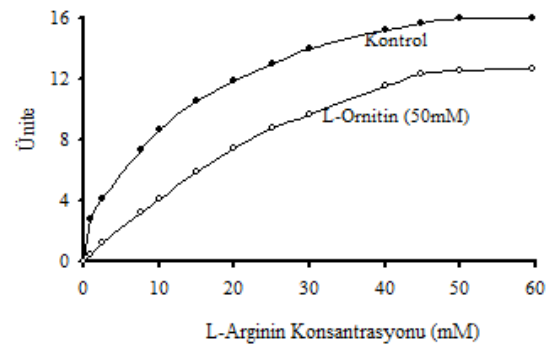
Şekil 2: L- ornitinin manda böbrek doku arginazı üzerine inhibisyon etkisi.



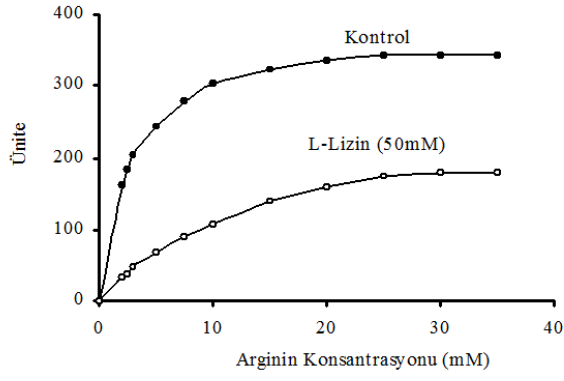
Şekil 5: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- ornitin varlığında manda karaciğer doku arginaz aktivitesinin değişimi.



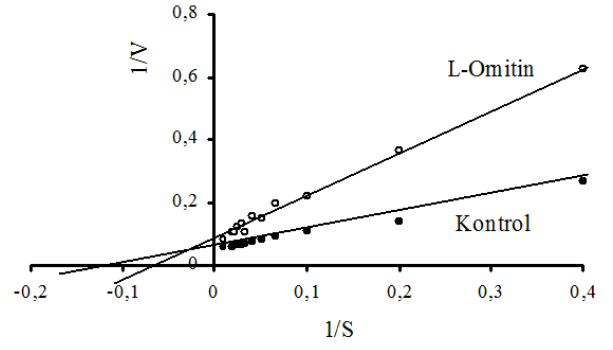
Şekil 3: L- lizin manda karaciğer doku arginazı üzerine inhibisyon etkisi.



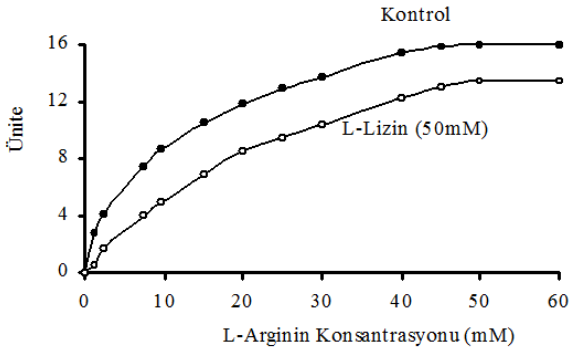
Şekil 6: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- ornitin varlığında manda böbrek doku arginaz aktivitesinin değişimi.



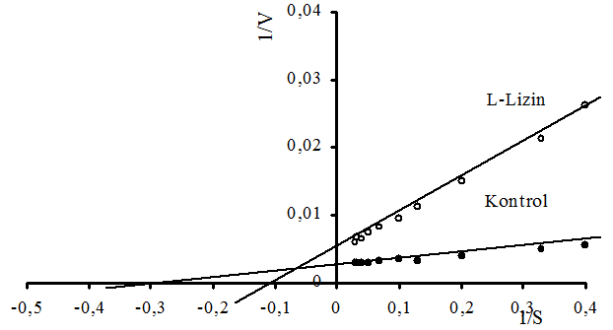
Şekil 7: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- lizin varlığında manda karaciğer doku arginaz aktivitesinin değişimi.



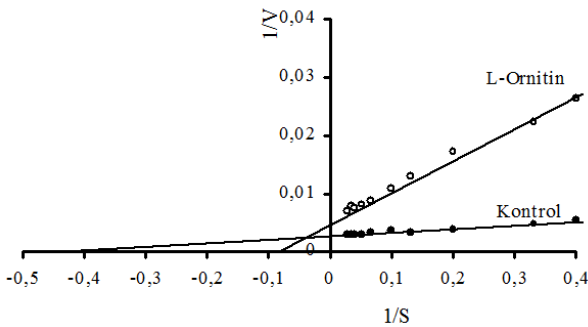
Şekil 10: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- ornitin varlığında manda böbrek doku arginazının Km değerinin Lineweaver- Burk grafiğine göre değerlendirilmesi.



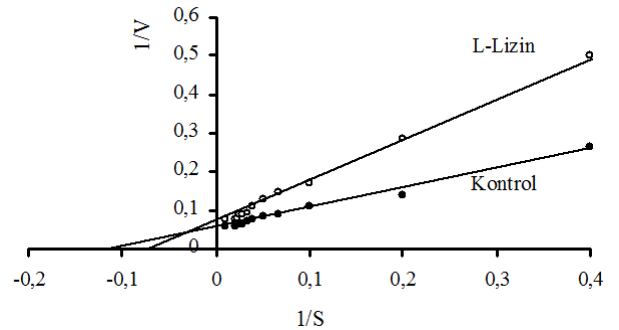
Şekil 8: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- lizin varlığında manda böbrek doku arginaz aktivitesinin değişimi.



Şekil 11: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- lizin varlığında manda karaciğer doku arginazının Km değerinin Lineweaver- Burk grafiğine göre değerlendirilmesi.



Şekil 9: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- ornitin varlığında manda karaciğer doku arginazının Km değerinin Lineweaver- Burk grafiğine göre değerlendirilmesi.



Şekil 12: Farklı substrat konsantrasyonlarında ve L- lizin varlığında manda böbrek doku arginazının Km değerinin Lineweaver- Burk grafiğine göre değerlendirilmesi.

Yaptığımız bu çalışmada, manda karaciğer ve böbrek doku arginazı üzerine farklı konsantrasyonlarda L- ornitin ve L- lizinin etkisini araştırmak amacıyla 20 mM L- ornitin ilave edildiğinde karaciğer doku arginazını %60, böbrek doku arginazını %39 inhibe ederken 20 mM L-lizin ise karaciğer doku arginazını %47, böbrek doku arginazını %41 oranında inhibe etmiştir. İnhibitörlerin konsantrasyonu 80 mM'a çıkarıldığında L- ornitin karaciğer doku arginazını %89, böbrek doku arginazını %86 inhibe ederken; L- lizin ise karaciğer doku arginazını %81, böbrek doku arginazını %79'luk bir inhibisyonuna uğrattığı görülmüştür (Şekil 1, 2, 3, 4). Bu sonuçlara göre, L- ornitin manda karaciğer ve böbrek dokusunu, L-lizinden daha kuvvetli inhibe ettiğini açıklayabiliriz. Bu sonuçlar Freedland ve ark. (15)'nin yaptığı çalışma ile paralellik göstermiştir. L- lizin ve L- ornitin amino asitlerinin arginaz enzimi için kuvvetli inhibitörleri olduğu çeşitli çalışmalarla açıklanmıştır (3, 10, 14, 15, 17-21).

Sığır karaciğer arginazında yapılan bir çalışmada, kompetatif inhibitör etki yapan L-lizin ve L- ornitin; putresin ve kadaverinden daha güçlü olduğunu açıklamışlardır (17). Bazı amino asitlerin rat meme bezi arginazında inhibisyon etkisi araştırılarak lizin, ornitin, valinin kuvvetli bir şekilde kompetatif tipte inhibisyona neden olduğunu; prolin, izolösin ve lösinin ise daha az inhibe ettiğini bulmuşlardır (18).

Amino asitlerin dokulara göre farklı etki ettiği de saptanmıştır. Özellikle bazı amino asitler karaciğer için bazıları ise böbrek için güçlü inhibitör etki yapmaktadır. Lizin ve ornitin manda karaciğer ve böbrek doku arginazı üzerine güçlü inhibitör etkisi görülmüştür. Bazı çalışmalarla bu etki desteklenmiştir. Kaysen ve Strecker (19), canavanin ve homoargininin karaciğer arginazını inhibisyona uğrattırırken; homosistein, lizin, ornitin, prolinin ise böbrek arginazını güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve bu amino asitlerin enzim üzerinde ikinci bir bölgeye bağlanarak etki ettiklerini açıklamışlardır. Levillain ve ark. (20) ise ördek böbrek tubullerinin farklı kısımlarında lizin, prolin, ornitin ve glutaminin inhibisyon etkisini araştırmışlardır. Buna göre böbrek tubuluslarının büyük kısmında arginaz enzimini en kuvvetli inhibe eden amino asitin lizin olduğunu; daha sonra ornitin ve glutamin takip ettiği; prolinin ise inhibisyon gücünün istatistik önemi olmadığını açıklamışlardır.

Bu çalışmada, L- ornitin ve L- lizinin manda karaciğer ve böbrek doku arginazında nasıl bir inhibisyona neden olduğu da saptanmıştır (Şekil 5, 6, 7, 8). Sonuçlara göre dokuların kontrollerin Km'leri, amino asit varlığındaki Km'lerinden farklı bulunmuştur. Kontrol Km'ler, karaciğer dokusu için 2,4 mM iken böbrek için 8 mM bulunmuştur. L- ornitin için karaciğerin 8,3 mM, böbreğin 14 mM bulunmasına karşılık L- lizin ilave edildiğinde karaciğerde 9,1 mM, böbrekte 13 mM olarak tespit edilmiştir. Farklı Km'lerin yanında Vmax değerlerinde de farklılık görülmüştür. Böylece manda karaciğer ve böbrek doku arginazlarının L- ornitin ve L- lizin ile karışık tipte inhibe ettiği tespit edilmiştir (Şekil 9, 10, 11, 12).

Rat karaciğer arginazında yapılan bir çalışmada ornitin ve üre kullanıldığında enzimi karışık inhibisyona uğrattığı açıklanmıştır (21).

Yapılan bazı çalışmalarda, L- ornitin memeli karaciğer arginazı üzerindeki inhibitör etkileri araştırılmış farklı sonuçlar elde edilmiştir. Hunter ve Downs (22) yaptığı çalışmada, memeli arginaz enzimini kompetatif inhibe ederken Mora ve ark. (23) ise nonkompetatif olduğunu bulmuşlardır. L- ornitin farklı derecelerde saflaştırılan renal hepatik arginazının kısmi olarak kompetatif / nonkompetatif (karışık tipte inhibisyon) etki yaptığı tespit edilmiştir (24). Pace ve Landers (25), saflaştırılmış sığır karaciğer arginazını pH değeri 9,5'da L-ornitin kompetatif inhibe ettiğini bulmuşlardır.

İzole edilen rat karaciğer mitokondri arginazını ornitin ve lizinin inhibe ettiği saptanmıştır (15). Üre döngüsü enzimlerinden arginazı en iyi inhibe eden amino asitin lizin olduğunu ve enzimi karışık inhibe ederken (26), Subrahmanyam ve Reddy (17), lizin ve ornitin sığır karaciğer enzimi için kuvvetli inhibitörü olduğunu kanıtlayarak enzimi kompetatif olarak inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Sıçan karaciğer arginazını L- amino asitlerden ornitin ve lizinin kompetatif, valin, lösin, izolösin ve sisteinin ise nonkompetatif tipte inhibisyona uğrattığı belirtilmiştir (16).

Dolinska ve Albrecht (27), rat beyin mitokondrisinde yaptıkları bir çalışmada 25 mM L-arginin kullanılarak L- ornitin ve L-lizinin etkisini açıklamışlardır. Buna göre enzimi 20 kat inhibe ettiği bulunmuştur. Carvajal ve ark. (28), insan karaciğer arginazının ornitin nonkompetatif, lizinin ise kompetatif inhibitörü (20, 28) olduğunu açıklamışlardır.

Kaysen ve Strecker (19), rat böbreğinde yaptığı bir çalışmada arginaz enzimin allosterik bölgelerinin var olduğu açıklamışlardır. Ayrıca dallanmış zincirli amino asitler tarafından oluşturulan kısmi inhibisyonlar arginaz üzerinde allosterik bir bölgenin varlığını, inhibitörün bu bölgeye bağlandığını (non- kompetatif inhibisyon) ve enzim amino asit kompleksinin enzimatik olarak aktif olduğunu göstermişlerdir (3). Rao ve ark. (29) meme tümörlerinde prolinin meme tümör arginazı üzerinde inhibisyon etkisini prolinin herhangi bir konformasyonel değişim olmaksızın aktif bölge için direkt olarak yarışmayla olduğunu açıklamışlardır.

L- lizinin 6-14 yaş arasındaki çocuklara 0,5 mmol/kg oranında enjeksiyonundan sonra plazmada ornitin ve arginin, idrarda ise amonyak konsantrasyonunda artışın saptanması, arginaz enzimini inhibe ettiğinin göstergesi olarak açıklanmıştır. Plazmadaki bu ornitin miktarındaki artış mitokondrial ornitin transportunun inhibisyonundan kaynaklandığı açıklanmıştır. Çünkü lizinin ammonojenik özelliğinin yanında hem ornitin transkarbamilaz aktivitesinin hemde lizin tarafından mitokondrial ornitin alınımının inhibisyonu ile ornitin sitrülüne dönüşümünün bozmasına neden olabileceği sonucuna varılmıştır (30).

Sonuç olarak, L- ornitin ve L- lizin manda karaciğer ve böbrek doku arginazını inhibisyona uğrattığı saptanmış, inhibisyon tipinin ise karışık tipte (kompetatif-

nonkompetatif inhibisyon) olduğu ortaya konulmuştur.

Kaynaklar

- Garganta CL, Bond JS. Assay and kinetics of arginase. *Anal Bioch* 1986; 154: 388-394.
- Ikemeto M, Tabata M, Murachi T, et al. Purification and properties of human erythrocyte arginase. *Ann Clin Biochem* 1989; 26: 547-553.
- Carvajal N, Cederbaum SD. Kinetics of inhibition of rat liver and kidney arginases by proline and branched- chain amino acids. *Biochim Biophys Acta* 1986; 870: 181-184.
- Özdemir N, Özçelik M. Manda karaciğer ve böbrek doku arginazının fotoinaktivasyonu ve kinetik özellikleri. *Tr J Vet Anim Sci* 2001; 25 (6): 995-1000.
- Yip MCM, Knox WE. Function of arginase in lactating mammary gland. *Biochem J* 1972; 127: 893-899.
- Braissant O, Gotoh T, Loup M, et al. L-arginine uptake, the citrulline- NO cycle and arginase II in the rat brain: An in situ hybridization study. *Molec Brain Res* 1999; 70: 231-241.
- Konarska L, Tomaszewski L and Rolczyk U. Studies on L-arginase in developing rat small intestine, brain and kidney. *Biochem. Med Metab Biol* 1986; 35: 170-178.
- Wu G, Morris SM. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 1998; 336: 1-17.
- Efron DT, Barbul A. Arginine and nutrition in renal disease. *J Nutr* 1999; 9 (3): 142-144.
- Muszynska G, Wojtczak M. Influence of immobilization on conformation of rat liver arginase. *Int J Biochem* 1979; 10: 665-668.
- Poremska Z, Grabon W, Zelazowska, et al. Nonidentity of ubunits of human kidney arginase A₁ and human liver arginase A₅. *Acta Biochim Polonica* 1993; 40 (4): 465-470.
- Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Analy Biochem* 1971; 39 (2): 412-417.
- Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 1975; 177: 751.
- Erişir M, Ozan ST. Sığır doku rumen arginazının bazı amino asitler tarafından inhibisyonu ve kinetiği. *Turk J Vet Anim Sci* 2000; 24: 65-70.
- Freedland RA, Crozier GL, Meijer AJ. Arginine uptake by isolated rat liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1984; 802: 407-412.
- Muszynska G, Wojtczak M. Influence of immobilization on conformation of rat liver arginase. *Int J Biochem* 1979; 10: 665-668.
- Subrahmanyam TSR, Reddy SRR. L- ornithine and L- lysine need their α -carboxyl groups for effective inhibition of bovine liver arginase. *Indian J Biochem Biophys* 1986; 23: 359-361.
- Fuentes JM, Campo ML, Soler G. Kinetics and inhibition by some aminoacids of lactating rat mammary gland arginase. *Arch Int Physiol Biochim Biophys* 1994; 102: 255-258.
- Kaysen GA, Strecker HJ. Purification and properties of arginase of rat kidney. *Biochem J* 1973; 133: 779-788.
- Levillain O, Hus-Citharel A, Morel F. Urea production by kidney collecting ducts in vitro: Effect of amino acid addition. *Pflugers Archiv European J Phy* 1994; 426: 481-490.
- Reczkowski RS, Ash DE. Rat liver arginase: kinetic mechanism, alternate substrates and inhibitors. *Arch Biochem Biophys* 1994; 312: 31-37.
- Hunter A, Downs CE. The inhibition of arginase by amino acids. *J Biol Chem* 1945; 157: 427-446.
- Mora J, Tarrab R, Martuscelli J, et al. Characteristics of arginase from ureotelic and non-ureotelic animals. *Biochem J* 1965; 96: 588-594.
- Carlisky NJ, Sadnik IL, Menendez JL. Properties of amphibian renal arginase- III. The molecular weight, chemical specificity and effects of ornithine and urea. *Comp Biochem Physiol* 1972; 42B: 81-90.
- Pace CN, Landers RA. Arginase inhibition. *Biochim Biophys Acta* 1981; 658: 410-412.
- Ameen M, Palmer T. Inhibition of urea cycle enzymes by lysine and saccharopine. *Biochem Int* 1987; 14 (3): 395-400.
- Dolinska M, Albrecht J. L- arginin uptake in rat cerebral mitochondria. *Neurochem Int* 1998, 33: 233-236.
- Carvajal N, Martinez J, Oca F, et al. Subunit interactions and immobilised dimers of human liver arginase. *Biochim Biophys Acta* 1978; 527: 1-7.
- Rao KVK., Pai SR, Bapat CV. The inhibition of arginase by proline in cell- free extracts of mouse mammary tumour. *Br J Cancer* 1974; 30: 129-135.
- Kato T, Sano M, Mizutani N. Inhibitory Effect of intravenous lysine infusion on urea cycle metabolism. *Eur J Pediatr* 1987; 146: 56-58.