

Arginaze: enzimi važni u zdravlju i bolesti

Buljan, Ema

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:321684>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Ema Buljan

Arginaze: enzimi važni u zdravlju i bolesti

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Ema Buljan

**Arginases: enzymes important in health and
disease**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularne biologije na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof.dr.sc. Nade Oršolić.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Arginaze: enzimi važni u zdravlju i bolesti

Ema Buljan

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Arginaza je ureohidrolaza koja iz L-arginina sintetizira L-ornitin i ureju. U sisavcima i vodozemcima, koji višak dušika izbacuju kroz ciklus ureje, prisutna je u dvije izoforme. Arginaza 1 je citosolni enzim najviše eksprimiran u jetri gdje sudjeluje u ciklusu ureje. Arginaza 2 je mitohondrijski enzim i prisutna je u raznim tkivima. L-ornitin je neproteinogena aminokiselina i prekursor za sintezu poliamina, prolina, glutamata i glutamina. Poliamini su molekule koje potiču staničnu proliferaciju, a prolin je prekursor za sintezu kolagena. Regulacijom aktivnosti arginaza regulira se proliferacija stanica i obnova tkiva. Dušik oksid sintaze iskorištavaju L-arginin za sintezu dušikovog (II) oksida, važne signalne molekule u kontroli vazodilatacije i protoka krvi. Brojne kardiovaskularne, bubrežne i neurovaskularne bolesti praćene su smanjenom sintezom dušikovog (II) oksida i povećanom ekspresijom i aktivnosti arginaza. Povećana aktivnost arginaza prisutna je i u tumorima i kroničnim upalama te suprimira imunosti odgovor. Terapije inhibitorima arginaza pružaju velike mogućnosti u liječenju brojnih bolesti potaknutih poremećenom ekspresijom i aktivnošću arginaza.

Ključne riječi: L-arginin, urea, dušikov (II) oksid, disfunkcija endotela, inhibitori arginaza
(35 stranica, 13 slika, 1 tablica, 140 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršolić

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Arginases: enzymes important in health and disease

Ema Buljan

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Arginase is a ureohydrolase that synthesizes L-ornithine and urea from L-arginine. In mammals and amphibians, who excrete excess nitrogen through the urea cycle, it exists in two isoforms. Arginase 1 is a cytosolic enzyme mostly expressed in liver where it contributes in the urea cycle. Arginase 2 is a mitochondrial enzyme present in different tissues. L-ornithine is a non-proteinogenic amino acid and a precursor for the synthesis of polyamines, proline, glutamate and glutamine. Polyamines are molecules that promote cell proliferation and proline is a precursor for collagen synthesis. Regulation of arginase activity enables regulation of cell proliferation and tissue repair. Nitric oxide synthases use L-arginine for the synthesis of nitric oxide, an important signalling molecule in controlling vasodilatation and blood flow. Various cardiovascular, renal and neurovascular diseases are supported by lowered nitric oxide synthesis and increased arginase expression and activity. Increased arginase activity is present in tumors and chronic inflammations and suppresses immune response as well. Therapies using arginase inhibitors provide great potential in treating many diseases encouraged by disrupted arginase expression and activity.

Keywords: L-arginine, urea, nitric oxide, endothelial dysfunction, arginase inhibitors

(35 pages, 13 figures, 1 table, 140 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Prof. Nada Oršolić, PhD

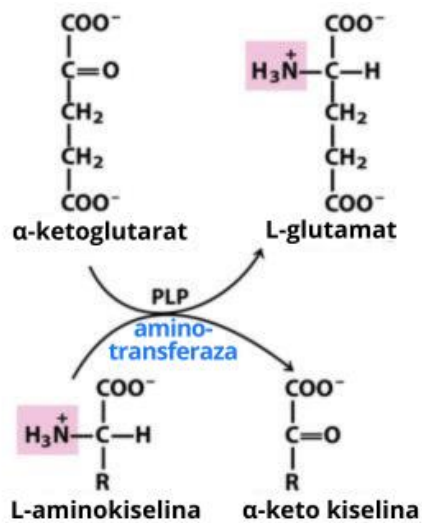
Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Ciklus ureje.....	3
3. Arginaze.....	5
3.1. Podjela arginaza.....	5
3.2. Građa enzima i mehanizam katalize.....	6
3.3. Evolucija arginaza.....	7
4. Metabolizam arginina i uloga arginaza.....	8
4.1. Biosinteza arginina.....	8
4.2. Produkti metabolizma arginina.....	9
4.2.1. Dušikov (II) oksid – NO.....	10
4.2.2. Poliamini.....	13
4.2.3. Prolin.....	14
5. Uloga arginaza u bolesti.....	15
5.1. Bolesti srca i krvnih žila.....	15
5.1.1. Hipertenzija.....	16
5.1.2. Plućna arterijska hipertenzija (PAH).....	17
5.1.3. Srpasta anemija.....	17
5.1.4. Dijabetes i kardiovaskularne bolesti.....	17
5.1.5. Ateroskleroza.....	18
5.1.6. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda miokarda.....	19
5.2. Bubrežne bolesti.....	19
5.3. Imunosne bolesti i tumori.....	20
5.3.1. Arginaze u razvoju tumora.....	21
5.4. Neurovaskularne bolesti.....	24
5.4.1. Moždani udar.....	26
5.4.2. Traumatska ozljeda mozga.....	27
5.4.3. Alzheimerova bolest.....	27
5.4.4. Neurovaskularna ozljeda mrežnice.....	27
6. Inhibitori arginaza.....	28
7. Zaključak.....	29

8. Literatura.....	29
9. Životopis.....	35

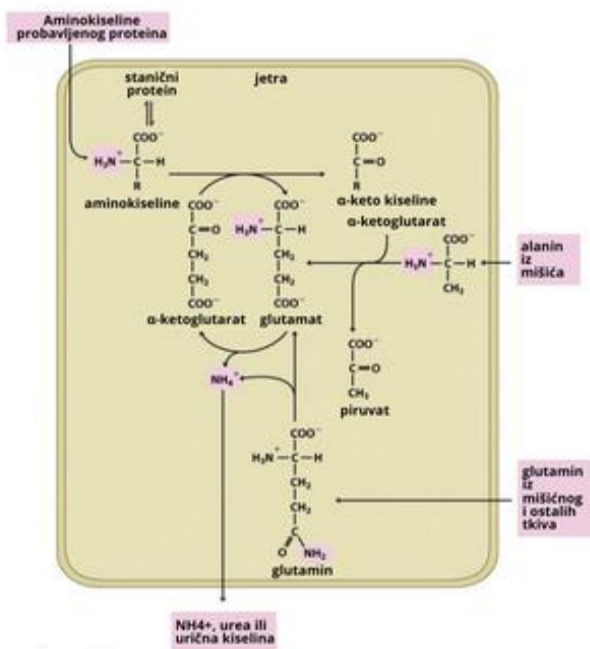
1. Uvod

Dušik je uz ugljik, kisik i vodik jedan od četiri osnovna elementa koji grade biomolekule svih živih bića. Osnovni je građevni element aminokiselina i nukleotida. Biološki je iskoristiv u obliku amonijaka koji je u organizmu 99 % zastupljen kao protonirani NH_4^+ i 1 % kao neprotonirani NH_3 (Dimski, 1994). U aminokiseline se asimilira pomoću aminokiselina glutamata i glutamina (Nelson i sur., 2021). Tijekom biosinteze aminokiselina glutamat i glutamin služe kao donori amino skupine, a tijekom oksidacije aminokiselina kao primatelji amino skupine. Prvi korak u razgradnji aminokiselina je uklanjanje amino skupine nakon čega ugljični lanac (α -keto kiselina) ulazi u ciklus limunske kiseline u svrhu dobivanja metaboličke energije. Te se reakcije odvijaju većinom u jetri. Na Slici 1. prikazana je povratna reakcija transaminacije pri kojoj se aminokiseline oksidiraju do α -keto kiselina uz predaju amino skupine α -ketoglutaratu pri čemu nastaje glutamat.



Slika 1. Transaminacija tijekom oksidacije aminokiseline do α -keto kiseline. Akceptor amino skupine je α -ketoglutarat koji prelazi u glutamat. Reakcija je katalizirana aminotransferazom uz kofaktor piridoksal fosfat (PLP). (Preuzeto i prilagođeno prema Nelson i sur., 2021)

U ostalim tkivima amonijak skladišti glutamin koji ga pohranjuje u obliku amidne skupine. U mišićnom tkivu istu ulogu ima i aminokiselina alanin. Obje aminokiseline cirkulacijom dopijevaju u jetru gdje se nastavlja metabolizam amonijaka. Pregled metabolizma amino skupine prikazan je na Slici 2.



Slika 2. Metabolizam amino skupine u jetri. Oslobođeni amonijak se transaminacijom pohranjuje u obliku amino skupine glutamata (jetra) i alanina (mišići) i amidne skupine glutamina (ostala tkiva). Višak dušika se u jetri izlučuje u obliku amonijaka, ureje ili urične (mokraćne) kiseline. (Preuzeto i prilagođeno prema Nelson i sur., 2021)

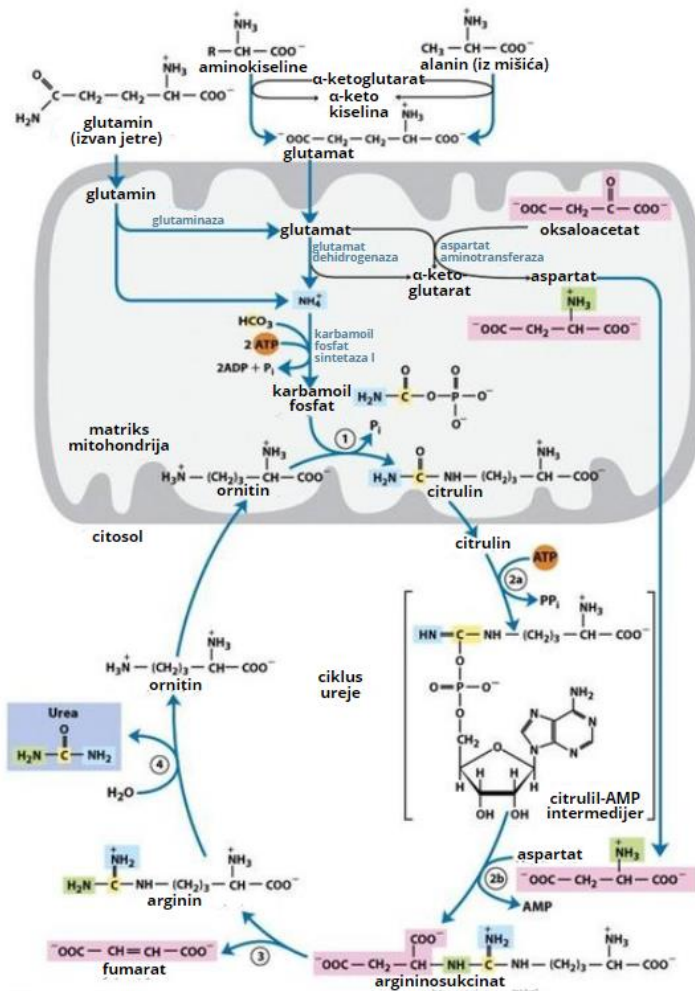
Različite skupine kralježnjaka na različite načine izlučuju amonijak. Ribe izlučuju amonijak direktno u obliku NH_4^+ iona u vodeni okoliš. Kopneni kralježnjaci moraju prerađivati amonijak i izlučivati dušik u obliku mokraćne kiseline (ptice i gmazovi) ili ureje (sisavci i mnogi vodozemci).

Poznato je da je mozak posebno osjetljiv na višak amonijaka (Nelson i sur., 2021). Do hiperamonijemije može doći zbog urođenih deficita u ciklusu ureje (Gropman i sur., 2007), nedovoljnog unosa arginina ili drugih intermedijera prehranom i raznih stečenih poremećaja rada jetre (ciroza, oštećenje portalne vene itd.) (Dimski, 1994). Posljedice po živčani sustav su kognitivni i motorički poremećaji, epileptički napadaji, promjene ponašanja, hiperaktivno ponašanje, depresija, hepatička encefalopatija pa čak i stvaranje moždanog edema i koma. Normalnim odvijanjem ciklusa ureje u jetri održava se niska koncentracija amonijaka u krvi sisavaca ($<50 \mu\text{M}$) (Braissant i sur., 2013).

2. Ciklus ureje

Kompletan ciklus ureje odvija se većinom u jetri, a pretpostavlja se i manjim dijelom u enterocitima u tankom crijevu, što je i potvrđeno istraživanjem ciklusa ureje kod svinja (Wu, 1995). Moguće je da ciklus ureje u enterocitima služi kao obrana od amonijaka koji se oslobađa tijekom probave proteina i aktivnošću crijevnu mikrobiote.

U biokemijskom putu sudjeluje ukupno pet enzima, redom: karbamoil fosfat sintetaza I i ornitin transkarbamoilaza u matriksu mitohondrija te argininosukcinat sintetaza, argininosukcinaza i arginaza u citosolu. Sve reakcije ciklusa ureje prikazane su na Slici 3.



Slika 3. Reakcije ciklusa ureje prikazane po staničnim odjeljcima u hepatocitima. 1 – ornitin transkarbamoilaza; 2a i b – argininosukcinat sintetaza; 3 – argininosukcinaza; 4 – arginaza. (Preuzeto i prilagođeno prema Nelson i sur., 2021)

Amonijak u jetru dolazi krvlju u obliku aminokiselina unesenih probavom proteina ili iz drugih tkiva u obliku glutamina i alanina (Slika 2.). U jednom ciklusu izluče se dvije amino skupine u jednoj molekuli ureje: prva amino skupina kao karbamoil fosfat ulazi u ciklus te s ornitinom sintetizira citrulin. Za sintezu karbamoil fosfata potrebna je energija u obliku dvije molekule ATP-a i ugljikov dioksid koji je produkt oksidativnih reakcija u mitohondriju. Sinteza karbamoil fosfata i citrulina odvija se u matriksu mitohondrija. Nakon transporta u citosol, citrulin reagira s donatorom druge amino skupine: aspartatom i uz utrošak ATP-a sintetiziraju argininosukcinat. Aspartat koji ulazi u ciklus sintetizira se u mitohondriju transaminacijom između glutamata i oksaloacetata, jednog od intermedijera ciklusa limunske kiseline. Argininosukcinat se cijepa na arginin i fumarat koji se dalje metabolizira u ciklusu limunske kiseline. Posljednja reakcija katalizirana arginazom oslobađa molekulu ornitina koji nastavlja kružiti u ciklusu ureje i molekulu ureje koja se oslobađa u citosol. Ureja iz jetre cirkulacijom dopijeva u bubrege odakle se izlučuje putem mokraćne.

Uz navedene osnovne enzime, za normalno funkcioniranje ciklusa ureje potrebni su i dodatni enzimi kao što su glutaminaza i glutamat dehidrogenaza koje oslobađaju amonijak koji u jetru dopijeva pohranjen u molekulama glutamina i glutamata (Slika 3.) te N-acetilglutamat sintaza koja sintetizira N-acetilglutamat, kofaktor neophodan za rad karbamoil fosfat sintetaze I. Također, u odvijanju ciklusa ureje bitni su i proteinski nosači koji kroz membranu mitohondrija prenose ornitin i citrulin te aspartat i glutamat. U jetri sisavaca ORC1 vrši kontratransport mitohondrijskog citrulina za citosolni ornitin, a citrin mitohondrijskog aspartata za citosolni glutamat i H^+ (Monné i sur., 2019).

Učinkovitost ciklusa ureje i maksimalno iskorištavanje amonijaka postiže se povezivanjem enzima u kompleks zvan metabolon i usmjeravanjem produkta s jednog enzima na idući enzim u biokemijskom putu (engl. *substrate channeling*). Poznato je da mitohondrijski enzimi N-acetilglutamat sintaza, karbamoil fosfat sintetaza I i ornitin transkarbamoilaza zajedno kolokaliziraju uz unutrašnju membranu mitohondrija (Powers-Lee i sur., 1987; Haskins i sur., 2021). Blizina membranskog transportera ORC1 omogućava usmjeravanje ornitina prema ornitin transkarbamoilazi i odvođenje sintetiziranog citrulina u citosol (Cohen i sur., 1987). Također je poznato da tri citosolna enzima: argininosukcinat sintetaza, argininosukcinaza i arginaza kolokaliziraju oko mitohondrija i usmjeravaju vlastite intermedijere (Cheung i sur., 1989). Posebno je jako usmjeravanje arginina između argininosukcinaze i arginaze kojim se minimalizira otpuštanje arginina u citosol. Arginaza je čvrsto vezana za mitohondrije i često se ne može odvojiti

ni višestrukim ispiranjima u uvjetima povećane osmolarnosti prilikom izolacije mitohondrija (Cheung i Raijman, 1981).

U nastavku rada fokus će biti na metabolizmu arginina i važnosti arginaza koje ne sudjeluju samo u ciklusu ureje već i u drugim bitnim biokemijskim putevima.

3. Arginaze

U prethodnom poglavlju arginaza je navedena kao citosolni enzim koji katalizira zadnji korak u ciklusu ureje: hidrolizu aminokiseline arginin na ureju i ornitin. Prvi put je otkrivena u velikim koncentracijama u jetri 1904., a njena uloga dodatno je objašnjena 1932. godine kad su H. A. Krebs i K. Henseleit opisali ciklus ureje (Wu i Morris, 1998). Navedeni enzim predstavlja jednu od dvije poznate izoforme arginaze ureoteličnih životinja.

3.1. Podjela arginaza

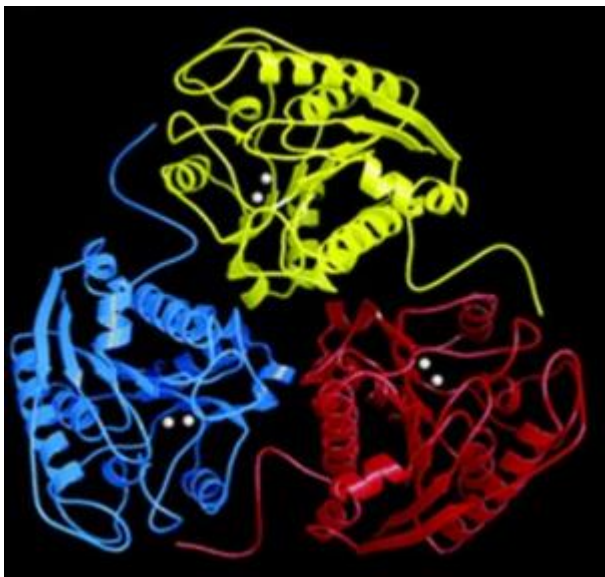
Arginaza je jedini enzim ciklusa ureje koji postoji u dvije izoforme: arginaza 1 i arginaza 2, skraćeno A1 i A2. Kodirane su dvama različitim genima na različitim kromosomima (Dizikes i sur., 1986) te se razlikuju po molekularnoj masi, naboju, smještaju u stanici i ekspresiji u različitim tkivima. Arginaza 1 je smještena u citosolu i eksprimirana u jetri kao posljednji enzim ciklusa ureje. Otkrivena je i u eritrocitima (samo kod primata), krvožilnom endotelu, bubrezima, tankom crijevu, mozgu, mrežnici i mijeloidnim stanicama (Kim i sur., 2002). Arginaza 2 je eksprimirana u mitohondrijima bubrega, mozga, mrežnice, jetre, tankog crijeva, krvožilnog endotela, prostate, penisa, mliječnih žlijezda i mijeloidnih stanica (Caldwell i sur., 2018; Zhang i sur., 2024). U bubrezima, mozgu i tankom crijevu obje su izoforme zastupljene jednakom aktivnošću, dok u jetri i eritrocitima A1 čini više od 95 % ukupne aktivnosti arginaza (Spector i sur., 1983).

Obje izoforme kataliziraju istu reakciju i stvaraju iste produkte. Ornitin nastao u reakciji kataliziranoj A1 u jetri isključivo se reciklira u ciklusu ureje, a onaj nastao u enzimskoj reakciji u mitohondriju pomoću A2 služi kao prekursor za sintezu poliamina, prolina, glutamina i glutamata. Zanimljivo je da su obje izoforme izražene u jetri, u kojoj je uloga A2 do nedavno bila nepoznata (Zhang i sur., 2024).

Danas se intenzivno istražuje uloga arginaza u regulaciji sinteze metabolita arginina kao što su dušikov (II) oksid, poliamini, kreatin, prolin, glutamin itd. (Wu i Morris, 1998).

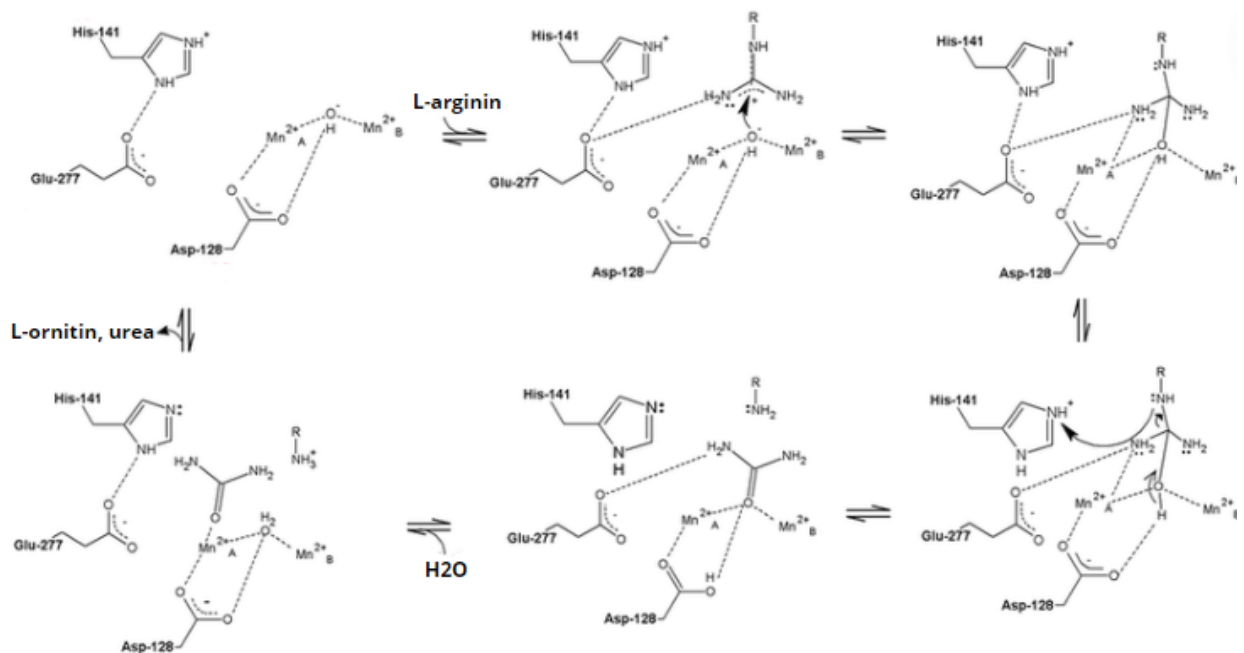
3.2. Građa enzima i mehanizam katalize

Arginaze su po funkciji ureohidrolaze za čiju su aktivnost potrebni ioni mangana Mn^{2+} . Funkcionalni enzim građen je od tri identične podjedinice s tri katalitička središta. U aktivnom mjestu svake podjedinice nalaze se po dva iona Mn^{2+} , jedan sa šest, a drugi s pet koordinacijskih veza unutar enzima. Posljednja koordinacijska veza stvara se tijekom stabilizacije prijelaznog stanja (Kanyo i sur., 1996; Caldwell i sur., 2018). Građa enzima prikazana je modelom na Slici 4.



Slika 4. Trimerna struktura arginaze. Sivim kuglicama prikazani su parovi Mn^{2+} iona. Na slici je prikazana arginaza 1 (A1) čovjeka. (Preuzeto iz Kanyo i sur., 1996)

Predloženi mehanizam reakcije prikazan je na Slici 5.



Slika 5. Predloženi mehanizam hidrolize L-arginina na L-ornitin i ureju katalizirane arginazom. U aktivnom mjestu sudjeluju dva iona Mn²⁺ između kojih je koordiniran OH⁻ ion koji nukleofilno napada gvanidijevu skupinu arginina. Dodatno su u katalizi bitni Asp-128 i Glu-277 koji koordiniraju ione i prijelazno stanje te His-141 koji protonira izlazni ornitin. (Preuzeto i prilagođeno prema Dutta i sur., 2019)

Ljudska A1 sadrži 322, a A2 354 aminokiselina (Dizikes i sur., 1986; Gotoh i sur., 1996). Primarna struktura im se poklapa 59 %, a aktivna mjesta su 100 % identična (Gotoh i sur., 1996).

3.3. Evolucija arginaza

Arginaza 2 je, za razliku od arginaze 1 koja je karakteristična za ureotelične kralježnjake, evolucijski star mitohondrijski enzim kojeg ispoljavaju svi životni oblici od bakterija i kvasaca do biljaka, beskralježnjaka i kralježnjaka (Dzik, 2014). Prva uloga arginaze je bila kontrola metabolizma arginina u uvjetima rasta, razvoja, proliferacije, upale i popravka tkiva o čemu će biti riječ u idućem poglavlju. Duplikacijom gena kod kralježnjaka arginaza ima i drugu ulogu: izlučivanje viška amonijaka u obliku ureje. Zanimljivo je da je utvrđena veća sličnost između A2 čovjeka i žabe *Xenopus laevis* nego između ljudskih A1 i A2 što opućuje na zaključak da se duplikacija gena za arginazu dogodila prije razdvajanja vodozemaca i sisavca (Morris i sur., 1997).

4. Metabolizam arginina i uloga arginaza

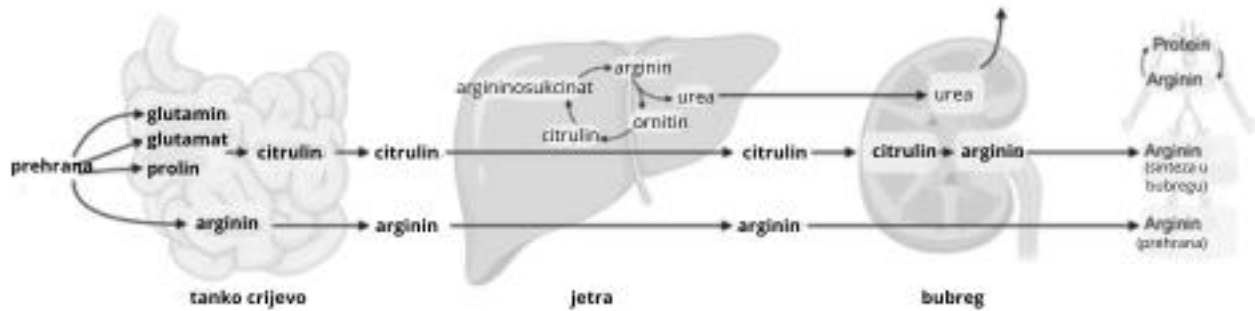
Poznato je da se aminokiseline dijele na esencijalne i neesencijalne ovisno o tome može li ih organizam samostalno sintetizirati ili ih je potrebno unositi prehranom. Arginin se definira kao esencijalna aminokiselina za jedinke u razvoju, a neesencijalna za odrasle jedinke osim u uvjetima bolesti i traume. Tijekom razvoja organizma i oporavka tkiva potrebne su veće količine arginina za sintezu kolagena i vezivnog tkiva od onog što organizam može sam sintetizirati (Barbul, 1986; Wu i Morris, 1998).

Zanimljivo je da je arginin esencijalna aminokiselina i za neke viruse, primjerice SARS-Cov-2 i viruse iz porodica *Herpesviridae* i *Adenoviridae* (Grimes i sur., 2021; Pedrazini i sur., 2024), koji bez njega ne mogu sintetizirati nukleokapsidu. Stoga je jedan od novih pristupa liječenju virusnih bolesti upotreba enzima koji troše arginin, među kojima se klinički ispituju pegziarginaza i druge rekombinantne arginaze (Grimes i sur., 2021).

4.1. Biosinteza arginina

U odraslim se sisavcima arginin sintetizira u bubrezima iz citrulina sintetiziranog u tankom crijevu. Citrulin se u tankom crijevu sintetizira iz glutamata, glutamina i prolina preko intermedijera L- Δ^1 -pirolin-5-karboksilata (Wakabayashi i sur., 1983) (Slika 7.) Sintezu pirolin-5-karboksilata iz glutamata i glutamina katalizira pirolin-5-karboksilat sintetaza eksprimirana samo u tankom crijevu (Wu i sur., 1997). Pretpostavka je da se 25 % ukupnog glutamina u crijevu otpušta u cirkulaciju kao citrulin (Barbul, 1986). Sinteza arginina u bubrezima je moguća jer su arginaza 2 i biosintetski enzimi (argininosukcinat sintaza i argininosukcinaza) eksprimirani u različitim dijelovima nefrona (Dhanakoti i sur., 1992), dok u jetri, zbog velike relativne koncentracije arginaze 1, sinteza nije moguća. Biosintetski put arginina naziva se i os crijeva - bubreg (engl. *intestinal-renal axis*) i prikazan je na Slici 6.

Novorođenčad većine sisavaca može sintetizirati arginin u cijelosti u tankom crijevu (Wu i Morris, 1998). Relativna koncentracija arginina u proteinima u mlijeku manja od koncentracije u tjelesnim proteinima (Davis i sur., 1993) zbog čega je jako bitna uspješna sinteza arginina *de novo* u ranom periodu života.

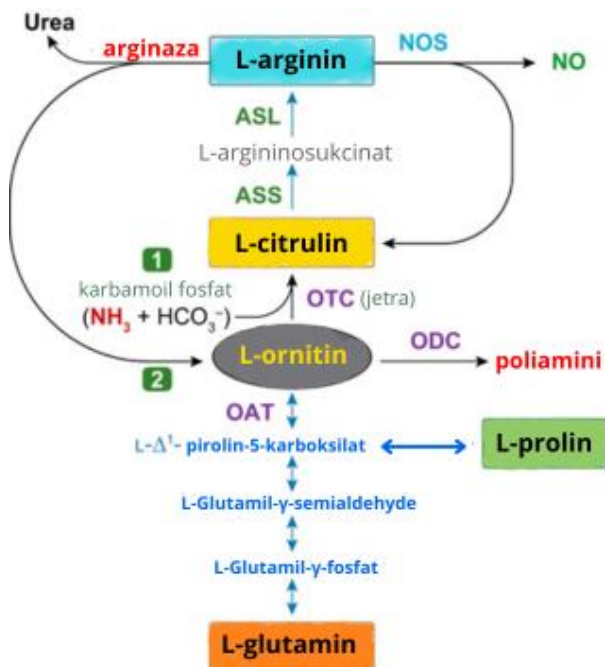


Slika 6. Biosintetski put arginina ili os crijeva – bubreg (engl. *intestinal-renal axis*). Prikazan je i ciklus ureje u jetri, ali njime se ne stvara neto arginin. (Preuzeto i prilagođeno prema Martí i Líndez i Reith, 2021)

4.2. Produkti metabolizma arginina

Arginin je prekursor za sintezu proteina, ureje (opisano u poglavlju o ciklusu ureje), NO, poliamina, prolina, glutamina, glutamata, kreatina i agmatina. Navedene se sinteze ne odvijaju u svim stanicama zbog različite ekspresije potrebnih enzima u različitim tkivima, staničnim odjeljcima i fazama razvoja te pod utjecajem prehrane, citokina i hormona (Wu i Morris, 1998).

Najvažniji produkti metabolizma arginina prikazani su na Slici 7. te će biti objašnjeni u idućim potpoglavljima.



Slika 7. Biokemijski putevi iskorištavanja arginina. Djelovanjem arginaze sintetiziraju se urea i ornitin, a djelovanjem NOS dušikov (II) oksid i citrulin. Prikazan je i put recikliranja citrulina do arginina pomoću enzima ASS i ASL. Navedeni enzimi sudjeluju i u biosintezi arginina u bubrezima i u ciklusu ureje u jetri. Ornitin je prekursor za sintezu poliamina pomoću ODC i drugih aminokiselina kao što su prolin i glutamin pomoću OAT. Kratice: NOS – dušik oksid sintaza, ASL – argininosukcinaza; ASS – argininosukcinat sintaza; OTC – ornitin transkarbamoilaza; ODC – ornitin dekarboksilaza; OAT – ornitin aminotransferaza. (Preuzeto i prilagođeno prema Caldwell i sur., 2018).

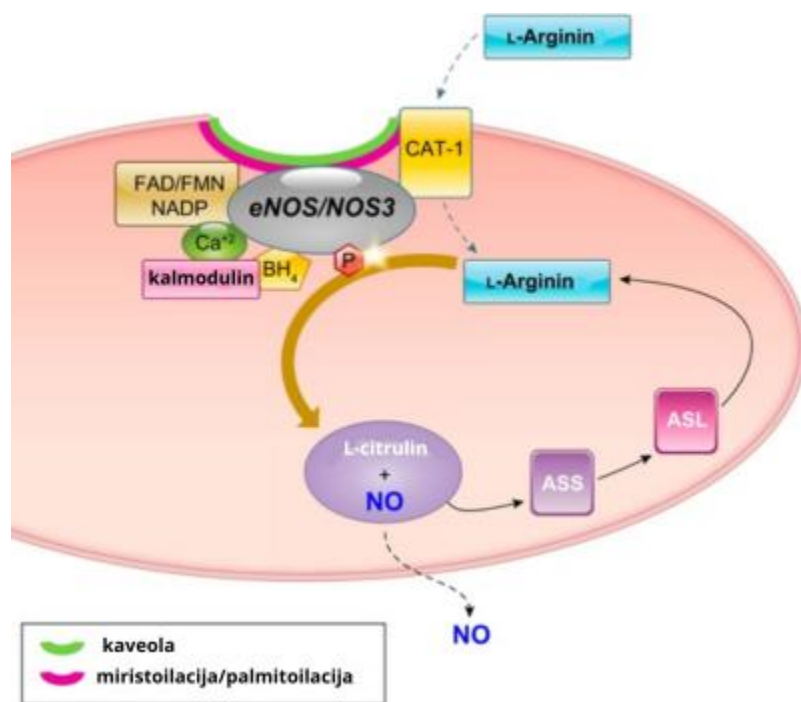
4.2.1 Dušikov (II) oksid - NO

Dušikov (II) oksid otkriven je 1988. godine kao jedan od produkata metabolizma arginina u makrofagima i endotelnim stanicama krvnih žila (Wu i Morris, 1998). Danas se zna da se radi o molekuli sintetiziranoj u brojnim tkivima s višestrukim ulogama. Nastaje u reakciji oksidacije arginina uz citrulin kao drugi produkt reakcije. Reakcija je katalizirana dušik oksid sintazom (skraćeno NOS). Poznato je da postoje tri izoforme NOS: NOS1/nNOS (neuronska dušik oksid sintaza), NOS2/iNOS (inducibilna dušik oksid sintaza) i NOS3/eNOS (endotelna dušik oksid sintaza). NOS1 i NOS3 u živčanom sustavu i epitelnim stanicama konstitutivno su eksprimirane i sintetiziraju male količine NO, dok se NOS2 eksprimira u više tipova stanica (makrofagi, tumorske stanice, hepatocite, keratinocite, glatke mišićne stanice itd.) pod određenim stimulansima i sintetizira velike količine NO (Vodovotz i sur., 1993).

nNOS je dušik oksid sintaza eksprimirana u živčanim stanicama i sudjeluje u staničnom signaliziranju, remodeliranju sinapsi, stvaranju memorije, prijenosu osjeta boli i otpuštanju neurotransmitera (Garry i sur., 2015; Caldwell i sur., 2018).

U makrofagima je sinteza dušikovog oksida dio mehanizma urođene imunosti protiv mikroorganizama i tumorskih stanica. iNOS se eksprimira pod utjecajem upalnih citokina koji se luče tijekom imunosti reakcije, primjerice pod utjecajem interferona γ (IFN- γ) i bakterijskog lipopolisaharda koji pojačavaju transkripciju gena za iNOS (Xie i sur., 1994). S druge, protuupalni citokini kao što su transformirajući čimbenik rasta β (TGF- β), IL-4 i IL-8 sprječavaju sintezu NO u uvjetima kad se organizam ne brani od patogena. TGF- β smanjuje stabilnost mRNA i potiče degradaciju sintetiziranog iNOS (Vodovotz i sur., 1993).

NO sintetiziran u krvožilnom endotelu relaksira (vazodilatira) krvne žile, sprječava agregaciju trombocita i leukocita (Palmer i sur., 1988) i na taj način održava normalan protok krvi. U glatkim mišićima krvnih žila NO aktivira gvanilat ciklazu koja pretvara GTP u cGMP. cGMP je signalna molekula koja aktivacijom kalcijevih pumpi preko protein kinaza izbacuje kalcijeve ione iz citoplazme u sarkoplazmatski retikulum i izvan stanice. Smanjenje koncentracije kalcija u stanici uzrokuje relaksaciju glatkih mišića (Caldwell i sur., 2018). NO smanjuje izražaj endotelnih adhezijskih molekula kao što su E-selektin i VCAM-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule-1*) koje omogućavaju adheziju leukocita na stijenke krvnih žila (De Caterina i sur., 1995). Dakle, NO ima značajnu ulogu u sprječavanju nastanka ateroskleroznih promjena na stijenkama krvnih žila i prevenciji endotelne disfunkcije (Caldwell i sur., 2018). Endotelna dušik oksid sintaza (eNOS) vezana je za membranu epitelnih stanica u području kaveola. Blizina membranskog transportera arginina CAT-1 (kationskog aminokiselinskog transportera 1) omogućava učinkovito iskorištavanje arginina koji ulazi u stanicu. Sinteza NO u endotelnim stanicama i recikliranje citrulina prikazano je na Slici 8.



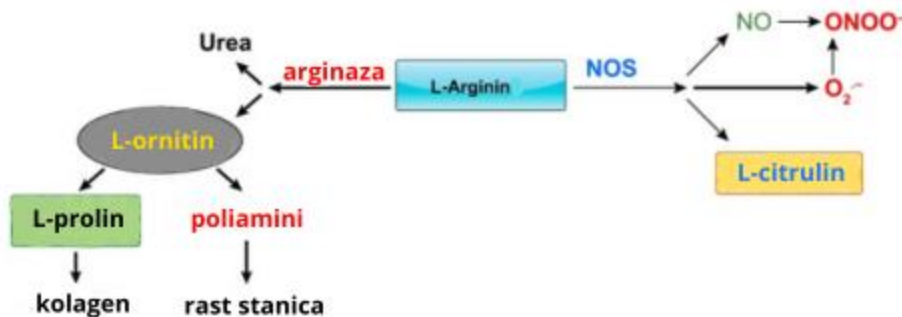
Slika 8. Sinteza NO i citrulina u endotelnim stanicama pomoću eNOS ili NOS3. Aktivni enzim na sebe veže FAD, FMN, NADP, Ca²⁺, kalmodulin, BH₄ i hem. Za vezanje na membranu kaveola bitna je modifikacije enzima miristoilacijom ili palmitoilacijom. Sintetizirani NO oslobađa se iz stanice, a citrulin se pomoću enzima ASS i ASL regenerira u arginin. Kratice: eNOS – endotelna

dušik oksid sintaza, CAT-1 – kationski aminokiselinski transporter 1, FMN/FAD – flavin mononukleotid/flavin adenin dinukleotid, BH₄ – tetrahidrobiopterin, P – hem, ASS – argininosukcinat sintaza, ASL – argininosukcinaza. (Preuzeto i prilagođeno prema Caldwell i sur., 2018).

Arginin je supstrat za arginaze i dušik oksid sintaze odnosno za sintezu ornitina ili citrulina i NO. Navedene se enzimske reakcije razlikuju po kinetičkim parametrima. Michaelis-Mentenina konstanta (koncentracija supstrata pri kojoj je brzina reakcije polovica maksimalne) K_m za arginaze iznosi 2 mM (Hecker i sur., 1990), a za eNOS 3 μ M (Pollock i sur., 1991). Prema navedenom parametru eNOS ima puno veći afinitet za arginin od arginaze (reda veličine tri). Međutim, s obzirom da je reakcija hidrolize arginina oko 1000 puta brža od reakcije oksidacije, arginaze i dušik oksid sintaze mogu kompetirati i podjednako iskoristavati supstrat u tkivima koja ekspimiraju oba enzima (Caldwell i sur., 2018). Takav je slučaj moguć u krvožilnim endotelnim stanicama u kojima arginaze 1 i 2 ograničavaju sintezu NO (Beleznai i sur. 2011; Shosha i sur. 2021). Pojačana aktivnost arginaza pridonosi razvoju brojnih bolesti praćenih endotelnom disfunkcijom kao što su ateroskleroza, visoki tlak i dijabetes (Lerman i Zeiher, 2005).

Smanjenjem količine dostupnog arginina za sintezu NO dolazi do tzv. *NOS uncoupling*-a. Tada NO sintaza kao glavni supstrat koristi kisik i stvara superoksidne ione O₂⁻ (Kaesemeyer i sur., 2000). Superoksidni anioni u reakciji s NO stvaraju toksični peroksinitrit ONOO⁻ velike oksidacijske sposobnosti u organizmu (Beckman i sur., 1990). Može oksidirati tetrahidrobiopterin BH₄, koji je kofaktor NOS-a, u BH₂ i tako dodatno smanjiti sintezu NO (Katusic i sur., 2009). Dodatno je poznato da manjak arginina u stanici inhibira translaciju iNOS (Lee i sur., 2003). Niska koncentracija NO u stanici omogućava nitrozilaciju cisteinskog bočnog ogranka arginaze 1 čime se dodatno povećava aktivnost arginaze 1 (Santhanam i sur., 2007).

Dvije reakcije koje kompetiraju za arginin i njihovi produkti prikazani su na Slici 9.



Slika 9. Sinteza ureje i ornitina pomoću arginaze te sinteza citrulina i NO pomoću NO sintaze. Vidljiv je i nastanak peroksinitrita ONOO^- iz NO i superoksida O_2^- u uvjetima potrošnje arginina uslijed povećane ekspresije arginaze. Prolin sintetiziran iz ornitina neophodan je za izgradnju kolagena, a poliamini za rast stanica. (Preuzeto i prilagođeno prema Caldwell i sur., 2018)

Dušikov (II) oksid i citrulin su najvažniji metaboliti koji nastaju oksidacijom arginina pomoću NOS. U nastavku će biti riječ o metabolitima koji se sintetiziraju iz arginina djelovanjem arginaza.

4.2.1. Poliamini

Poliamini se sintetiziraju iz ornitina u reakciji kataliziranoj ornitin dekarboksilazom (ODC) preko intermedijera putrescina. Radi se o skupini organskih molekula od kojih su najvažniji spermin i spermidin i sintetiziraju se i u prokariotskim i u eukariotskim stanicama (Heby, 1981) uz iznimku dva reda arheja (Hamana i Matsuzaki, 1992). Alternativni način sinteze poliamina je od agmantina, još jednog metabolita arginina, pomoću arginin dekarboksilaze (ADC) (Caldwell i sur., 2018). Uloga poliamina u organizmu je višestruka i kompleksna. Imaju esencijalnu ulogu u regulaciji proliferacije, diferencijacije i stanične smrti te u razvoju živčanog sustava, upali i obnovi tkiva (Wallace i sur., 2003).

Kao polikationi poliamini imaju mogućnost povezivanja negativno nabijenih makromolekula. Tako sudjeluju u stvaranju sekundarnih struktura u molekuli DNA i u interakcijama DNA s jezgrinim matriksom (Matthews, 1993; Basu i sur., 1993). Vežu se na membranske fosfolipide te reguliraju funkciju enzima vezanih na staničnu membranu (adenilat ciklaza, glutaminaza itd.) i ionskih kanala (naponom reguliran kalcijev kanal, kalijev kanal itd.) (Wright i sur., 1978; Schuber, 1989; Williams, 1997; Beninati i sur., 1998).

Tijekom staničnog ciklusa koncentracija ODC-a i poliamina se ciklički mijenja te oni, kao i ciklini i ciklin-ovisne kinaze, reguliraju prijelaz između faza staničnog ciklusa. Ovisno o okolišnim signalima potiču rast ili smrt stanica (Wallace i sur., 2003). Programirana stanična smrt uzrokovana je oksidacijom spermina i spermidina uz oslobađanje vodikovog peroksida H_2O_2 (Ha i sur., 1997). Poznato je i da tumorske stanice sadrže povećanu koncentraciju poliamina (Wallace i sur., 2003).

Arginaze sprječavaju apoptozu živčanih stanica jer inhibiraju sintezu dušikovog oksida i proteina, a arginin usmjeravaju za sintezu poliamina. Smanjena sinteza proteina i NO omogućuje duže preživljavanje stanica (Esch i sur., 1998). Ornitin dekarboksilaza (ODC) je najviše eksprimirana u mozgu u vrijeme najintenzivnijeg razvoja i sazrijevanja kada su poliamini neophodni za migraciju stanica, aksonogenezu i sinaptogenezu (Slotkin i Bartolome, 1986).

4.2.2. Prolin

L-prolin je ciklička aminokiselina koja se sintetizira iz ornitina preko intermedijera pirolin-5-karboksilata pomoću ornitin aminotransferaze (OAT) i pirolin-5-karboksilat reduktaze (Wu i Morris, 1998). Neophodna je aminokiselina za sintezu kolagena, proteina koji gradi izvanstanični matriks. Kolagen je građen od aminokiselina glicina i prolina te derivata 4-hidroksiprolina i hidrokstilizina. Dakle, ekspresija arginaza je ograničavajući čimbenik za sintezu prolina i izgradnju izvanstaničnog matriksa vezivnog tkiva (Pegg i McCann, 1982). Iz ornitina preko pirolin-5-karboksilata može se sintetizirati i glutamat uz katalizu pirolin-5-karboksilat dehidrogenaze (Slika 7.) (Wu i Morris, 1998).

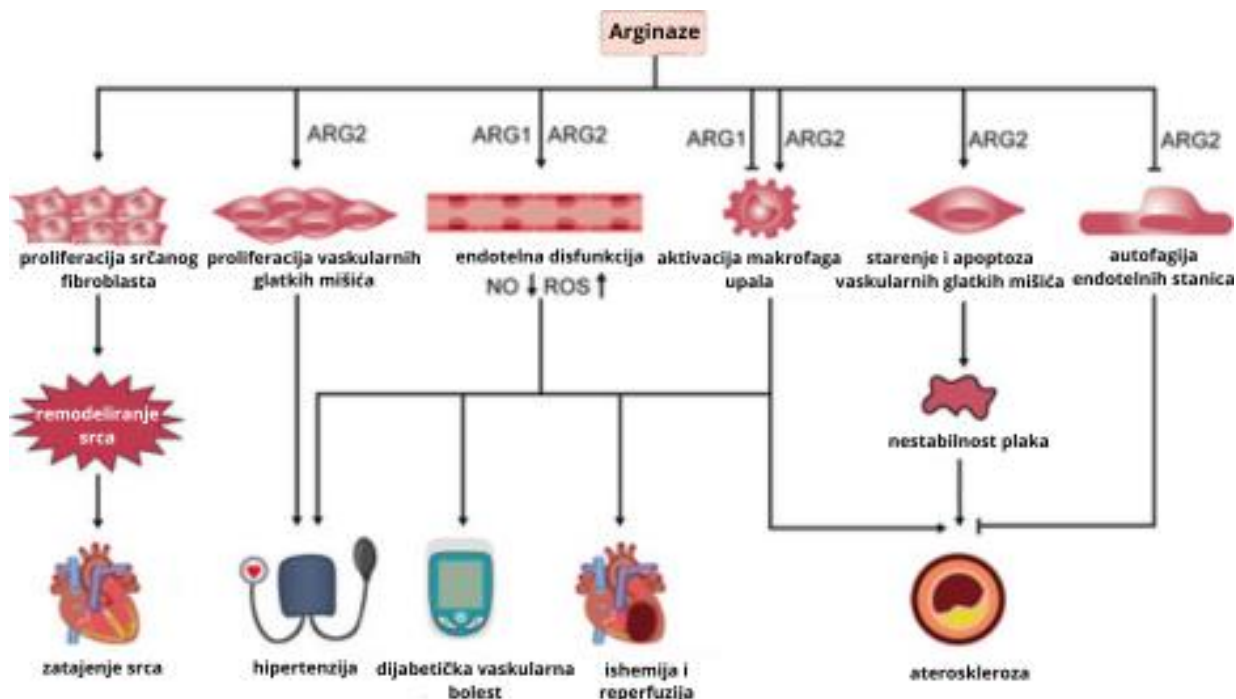
Prolin i poliamini s jedne strane te NO s druge strane najvažniji su derivati arginina sintetizirani u različitim fazama popravka tkiva nakon oštećenja. Oštećenje tkiva može nastati uslijed napada patogena, mehaničkog ozljeđivanja tkiva, hipoksije itd. U prvoj upalnoj fazi, aktivirani tkivni makrofagi sintetiziraju velike količine NO i superoksida O_2^- pomoću iNOS i NADPH oksidaze. Povećana oksidacijska i citotoksična aktivnost ubija patogene, ali i uštećuje vlastito tkivo. Nakon nekoliko dana, u fazi proliferacije i popravka pojačana ekspresija arginaza uzrokuje povećanu sintezu poliamina i prolina te obnovu i rast tkiva (Satriano, 2004; Caldwell i sur., 2018).

5. Uloga arginaza u bolesti

Promijenjena ekspresija i aktivnost arginaza jedan je od uzroka brojnih patoloških stanja koja zahvaćaju više organskih sustava, od krvožilnog i živčanog do imunološkog sustava. O uzrocima razvoja tih bolesti bit će riječ u nastavku poglavlja.

5.1. Bolesti srca i krvožilnog sustava

Poznata je uloga NO u dilataciji krvnih žila i održavanju normalnog protoka krvi. Brojne bolesti uzrokovane disfunkcijom krvožilnog endotela (vazokonstrikcijom, stvaranjem tromba i upalom) praćene su smanjenom sintezom NO zbog povećane ekspresije i aktivnosti arginaze 1 i 2 (Caldwell i sur., 2018). Povećana sinteza ornitina i njegovih produkata poliamina i prolina u krvožilnom sustavu dovodi do proliferacije (hiperplazije) glatkih mišića te fibroze srca i krvnih žila uslijed povećanog odlaganja kolagena i fibronektina (Caldwell et al., 2018; Durante, 2013). Navedene strukturne promjene u građi stijenke krvnih žila nastaju povećanjem aktivnosti arginaza tijekom starenja (Berkowitz i sur., 2003), ali i uslijed patoloških promjena i stimulansa. Među takvim stimulansima otkrivenim u ljudima i drugim sisavcima su IL-4 i 13, hipoksija, trombin, bakterijski lipopolisaharid (LPS) i pneumolizin, TNF- α , reaktivne kisikove vrste (ROS), oxLDL itd. (Durante, 2013; Lucas i sur., 2014). U ljudskim glatkim mišićnim stanicama IL-13 i hipoksija djeluju kao induktori arginaze 2 te potiču njihovu proliferaciju (Chen i sur., 2012; Cho i sur., 2013). U ljudskim endotelnim stanicama pojačano se ekspimiraju arginaza 1 pod utjecajem LPS-a i TNF- α i arginaza 2 pod utjecajem hipoksije, trombina i visoke razine glukoze u krvi (Ming i sur., 2004; Romero i sur., 2008). Stoga arginaze okupiraju velik interes znanstvenika kao jedna od obećavajućih meta u razvoju terapija za liječenje bolesti srca i krvnih žila (Durante, 2013). Presjek najčešćih bolesti čiji su uzročnik arginaze prikazan je na Slici 10.



Slika 10. Bolesti srca i krvnih žila uzrokovane promijenjenom ekspresijom ili aktivnosti arginaza. Arginaze mijenjaju stanične procese makrofagnih, endotelinih, glatkih mišićnih i srčanih stanica. Kratice: ROS – reaktivne kisikove vrste; ARG1– arginaza 1; ARG2 – arginaza 2; NO – dušikov (II) oksid; (Preuzeto i prilagođeno prema Li i sur., 2022)

5.1.1. Hipertenzija

Jedno od najčešćih patoloških stanja koje je praćeno povećanom ekspresijom ili aktivnosti arginaza i smanjenim stvaranjem NO je povišeni krvni tlak (hipertenzija). Radi se o bolesti koja zahvaća preko 1,28 milijardi ljudi u dobi od 30 do 79 godina (WHO, 2023). Hipertenzija se dijeli na primarnu (esencijalnu, idiopatsku) koja nema određeni uzrok, a javlja se pod utjecajem genetskih i okolišnih čimbenika (Carretero i Oparil, 2000) i sekundarnu hipertenziju koja ima određeni uzrok i javlja se u svega 5-10 % slučajeva hipertenzije. Česti uzroci sekundarne hipertenzije su bubrežne bolesti, renovaskularna hipertenzija, aldosteronizam, opstruktivna apneja u snu, Cushingov sindrom i poremećen rad štitnjače (Charles i sur., 2017). Jedna od obećavajućih metoda liječenja hipertenzije je upotreba inhibitora arginaze. Jedan od ispitivanih inhibitora arginaze, N ω -hidroksinor-L-arginin (nor-NOHA) klinički se ispituje, a na modelu štakora dokazano je da učinkovito snižava krvni tlak u slučaju primarne hipertenzije, povećava sintezu NO i smanjuje odlaganje kolagena, remodeliranje stijenke aorte i hipertrofiju lijevog ventrikula srca (Bagnost i sur., 2010).

5.1.2. Plućna arterijska hipertenzija (PAH)

Plućna arterijska hipertenzija letalna je bolest uzrokovana jakom vazokonstrikcijom, trombozom i patofiziološkim promjenama u stijenkama dišnih putova (Humbert i sur., 2004). Karakteristika PAH-a je povećana ekspresija arginaze 2 koja se inducira u stanju hipoksije pomoću transkripcijskog čimbenika HIF-2 α (engl. *hypoxia-inducible transcription factor*) (Chen i sur., 2009; Cowburn i sur., 2016). Terapije istraživane na životinjskim modelima temeljene su na inhibiciji arginaze 2 i uspješno smanjuju tlak i odlaganje kolagena u plućnoj cirkulaciji i usporavaju razvoj plućne arterijske hipertenzije u stanju hipoksije (Grasemann i sur., 2015; Chu i sur., 2016).

5.1.3. Srpasta anemija

Srpasta anemija recesivna je bolest uzrokovana točkastom mutacijom u genu za β lanac hemoglobina. Mutirani hemoglobin u deoksigeniranom stanju polimerizira te zbog toga eritrociti poprimaju srpasti umjesto karakterističnog bikonkavnog oblika. Zbog otežanog protoka kroz kapilare eritrociti se lako liziraju te ispuštaju unutarstanični sadržaj. Oslobođeni hemoglobin, hem i arginaza 1 remete rad endotela te uzrokuju povišenje tlaka u plućnoj cirkulaciji i razvoj akutnog sindroma prsnog koša (Potoka & Gladwin, 2015). Uz povišenu razinu arginaze 1 koja kompetira za arginin i smanjuje sintezu NO, razina NO u krvi se dodatno smanjuje vezanjem na oslobođeni hemoglobin (Kato i sur., 2017). Povišena razina poliamina i prolina ubrzava fibrozu pluća (Caldwell i sur., 2018). Povećani unos arginina i citrulina ili uporaba inhibitora arginaze u animalnim modelima ublažava posljedice srpaste anemije i smanjuje sistemsku i plućnu hipertenziju (Morris 2006; Stepan i sur., 2016).

5.1.4. Dijabetes i kardiovaskularne bolesti

Brojne su popratne bolesti i komplikacije koje se mogu pojaviti kao posljedica dijabetesa. Među njima su najčešće kardiovaskularne bolesti. Karakteriziraju ih endotelna disfunkcija, fibroza i zadebljanje stijenki krvnih žila praćeni povišenom koncentracijom arginaze 1 u krvi (Kövamees i sur., 2016). Jedna od komplikacija kod kojih je zabilježena povećana aktivnost arginaze 1 je dijabetička retinopatija kod miševa i štakora. Zahvaća kapilare u oku te oštećuje mrežnicu i može dovesti do sljepoće (Elms i sur., 2013). Bitno je spomenuti i koronarnu bolest koja zahvaća koronarne arterije koje opskrbljuju srčani mišić krvlju. Korištenje inhibitora arginaze, primjerice N^G-hidroksi-L-arginina (L-NOHA) i nor-NOHA ima perspektivu u liječenju koronarne bolesti

(Beleznai i sur., 2011; Grönros i sur., 2011) što je dokazano i kliničkim ispitivanjem na ljudima s dijabetesom i koronarnom bolesti (Shemyakin i sur., 2012).

Arginaza 1 je povišeno eksprimirana i u pretilosti u jetri, krvožilnom endotelu i proupalnim M1 makrofagima (Caldwell i sur., 2018). Miševi hranjeni tzv. zapadnjačom hranom s velikim udjelom masti i saharoze imaju povišen razinu arginaze i u kosti i koštanoj moždini što uzrokuje smanjenje gustoće i volumena kosti (Bhatta i sur., 2015).

5.1.5. Ateroskleroza

Najozbiljnija bolest koja zahvaća arterijske stijenke je ateroskleroza. Razvoj ateroskleroze uzrokovan je disfunkcijom endotela gdje se uslijed razvoja upale i formiranja plaka promjer žile smanjuje i otežava protok krvi. Disfunkcija endotela nastaje zbog pojačane ekspresije arginaze 2, a glavni okidač za indukciju njene ekspresije su oksidirane lipoproteinske čestice niske gustoće (oxLDL) (Ryoo i sur., 2006). OxLDL čestice nakupljaju se uz stijenku, aktiviraju endotelne stanice na izražaj adhezijskih molekula čime se omogućava adhezija leukocita na endotel krvnih žila i migracija u unutarnje slojeve arterijske stijenke (tunica intima). Aktivirani makrofagi M1 sintetiziraju reaktivne vrste kisika (ROS, engl. *reactive oxygen species*) i proteolitičke enzima koji degradiraju izvanstanični matriks vaskularnog tkiva i uzrokuju destabilizaciju plaka (Poznyak i sur., 2021). Jedna od potencijalnih metoda liječenja je blokiranje receptora LOX-1 (engl. *lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor*) na kojeg se vežu oxLDL čestice i pokreću signalni put kojim se aktivira arginaza 2. Enzim se aktivira cijepanjem N-terminalnog dijela pomoću mitohondrijskih procesirajućih peptidaza (MPP) i seljenjem iz mitohondrija u citosol (Pandey i sur., 2014a). OxLDL čestice potiču i ekspresiju arginaze 2 na transkripcijskoj razini smanjujući razinu histon deacetilaze 2 koja suprimira transkripciju arginaze 2 (Pandey i sur., 2014b).

Zanimljivo je da arginaza 1 eksprimirana u M2 makrofagima ima zaštitnu ulogu u razvoju ateroskleroze. S obzirom da M2 makrofagi djeluju protuupalno, uloga arginaze 1 je utišavanje upalnih reakcija i stabilizacija plaka (Durante, 2013). Stoga arginaze 1 i 2 imaju suprotne učinke u razvoju ateroskleroze što je prikazano i na Slici 11.



Slika 11. Učinak arginaze 1 iz M2 makrofaga i arginaze 2 iz endotela na regulaciju stvaranja plaka u aterosklerozi. (Preuzeto i prilagođeno prema Durante, 2013)

S obzirom na recipročnu ulogu arginaza u nastanku ateroskleroze, novi pristup liječenju je pronalazak lijekova koji inhibiraju isključivo arginazu 2. Dosad poznati inhibitori (2(S)-amino-6-boronoheksanoična kiselina, S-(2-boronoetil)-L-cistein, nor-NOHA itd.) nisu specifični za određenu izoformu. Također je fokus istraživanja na upotrebi siRNA molekula za utišavanje arginaze 2 u krvnim žilama (Shin i sur., 2012). Zanimljivo je i da unos antioksidansa prehranom povećava razinu arginaze 1, smanjuje razinu arginaze 2 i potiče endotelnu funkciju. Primjeri takvih antioksidansa su flavanoli iz kaka i polifenoli iz crnog vina (Schnorr i sur., 2008; Dal-Ros i sur., 2012).

5.1.6. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda miokarda

Ishemija miokarda (infarkt) teško je oštećenje srčanog mišića koje nastaje zbog začepjenja koronarnih arterija. Kako bi se spriječilo širenje ishemije po cijelom srcu, infarkt se liječi reperfuzijom kojom se brzo i učinkovito obnavlja krvotok kroz začepljene žile. Dvije korištene metode su tromboliza, kojom se lijekovima potiče razgradnja krvnih ugrušaka, i perkutana koronarna intervencija (PCI), kojom se u začepljenu žilu ugrađuje stent (Hausenloy i Yellon, 2013). Metode reperfuzije često mogu dodatno oštetiti miokard uslijed sinteze ROS-ova i proupalnih citokina te aktivacije endotela i adhezije neutrofila (Caldwell i sur., 2018). Ključnu ulogu u nastanku ozljede ima povišena aktivnost arginaza 1 i 2. Tretiranje laboratorijskih životinja inhibitorom arginaza nor-NOHA pri ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi povećava sintezu NO, širi krvne žile i povećava protok krvi te ograničava područje miokarda zahvaćeno infarktom (Gonon i sur., 2012; Grönros i sur., 2013; Caldwell i sur., 2018).

5.2. Bubrežne bolesti

Među čestim uzrocima bubrežnih bolesti su povišen krvni tlak i dijabetes opisani u prethodnom potpoglavlju o bolestima srca i krvnih žila. Zatajenje bubrega je krajnji stadij u bolestima kao što su dijabetička nefropatija, hipertenzivna nefropatija i glomerulonefritis za koje je karakteristična povišena razina arginaze 2 u bubregu (Morris i sur., 2011; Caldwell i sur., 2018).

Dijabetička nefropatija je kronična progresivna bolest koja počinje glomerularnom hiperfiltracijom i hipertrofijom, a nastavlja se zadebljanjem glomerularne bazalne membrane, endotelnom disfunkcijom i filtracijom albumina. Često u roku od pet godina dolazi do zatajenja rada bubrega (Morris i sur., 2011). Arginaza 2 eksprimirana u bubregu sudjeluje u katabolizmu arginina sintetiziranog u enzimskim reakcijama u crijevu i bubregu (sinteza arginina opisana je u potpoglavlju 4.1.). Nove uloge arginaze 2 se još razjašnjavaju, ali poznato je da smanjena sinteza NO uzrokuje smanjeni protok krvi kroz srž bubrega (Morris i sur., 2011). U slučaju dijabetesa blokiranje arginaze smanjuje oštećenje bubrega. Tretman inhibitorima arginaza smanjuje albuminuriju, koncentraciju ureje u krvi, histopatološke promjene u bubregu i aktivnost makrofaga u laboratorijskim životinjama (You i sur., 2015).

Nova istraživanja otkrivaju ulogu arginaza u razvoju bubrežnog visokog tlaka, ali mehanizam još nije jasan (Caldwell i sur., 2018).

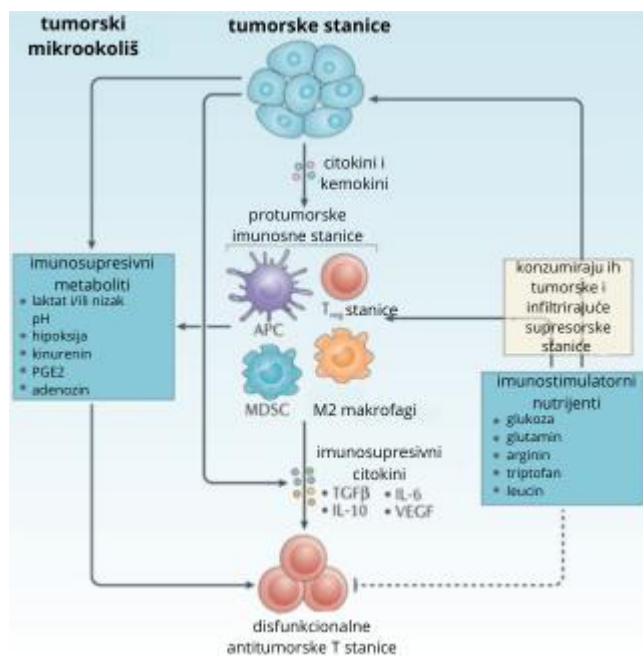
5.3. Imunosne bolesti i tumori

Makrofagi su leukociti koji nastaju iz mijeloidnog progenitora i imaju stražarsku ulogu u svim tkivima i organima. Ovisno o signalima iz okolišta aktiviraju se i polariziraju na M1 ili M2 makrofage. Glavna zadaća M1 makrofaga je fagocitiranje patogena, tumorskih i umrlih stanica te predočavanje antigena T limfocitima čime djeluju kao posrednik između urođene nespecifične i stečene specifične imunosne reakcije. Makrofagi polariziraju u M1 tip pod utjecajem patogenih molekularnih obrazaca (PAMP, engl. *patogen-associated molecular patterns*) i interferona γ (IFN- γ). M2 makrofagi, aktivirani pod utjecajem protuupalnih citokina Il-4 i 13, imaju ulogu u oporavku tkiva nakon Imunosne reakcije, potiču angiogenezu i sintezu kolagena u izvanstaničnom matriksu (Abbas i sur., 2018). M1 makrofagi eksprimiraju velike količine iNOS i troše arginin za sintezu mikrobicidnog NO, a M2 eksprimiraju arginazu 1 za sintezu ornitina. Ornitin se troši na sintezu poliamina za proliferaciju i prolina za izgradnju kolagena i vezivnog tkiva (Caldwell i sur., 2018). Pojednostavljeno se makrofagi dijele na M1 i M2, ali poznato je da se M2 makrofagi, ovisno o

citokinima koji ih aktiviraju, diferenciraju na M2a, b i c makrofage s različitim funkcijama (Mantovani i sur., 2004).

5.3.1. Arginaze u razvoju tumora

Stanice stečene imunosti koje brane organizam od virusa, mikroorganizama i tumora su citotoksične T-stanice ($CD8^+$ T-limfociti) i T-pomoćničke stanice 1 (T_H1 , $CD4^+$ T-stanice) (Speiser i sur., 2016). Imunosni sustav ne uspijeva uvijek ukloniti izvor bolesti i tad se javljaju kronične upalne bolesti, infekcije i tumori (Caldwell i sur., 2018). Razlog tome je što je početni Imunosni odgovor stanica T jak, a potom slabi zbog aktivacije supresijskih mehanizama. U suprotnom bi dugotrajna jaka imunološka reakcija oštetila tkivo. Zbog toga Imunosni sustav često ne uspijeva eliminirati tumor. Nefunkcionalne T-stanice slabo proliferiraju, luče malo citokina, ekspimiraju inhibitorne receptore (CTLA-4 i PD-1) i citotoksične molekule (granzim B) (Speiser i sur., 2016). Na Slici 12. prikazani su čimbenici u tumorskom mikrookolišu koji onemogućavaju normalno funkcioniranje T-stanica u obrani od tumora.



Slika 12. Disfunkcionalne antitumorske T-stanice ($CD8^+$ i T_H1) i čimbenici u tumorskom mikrookolišu koji ograničavaju normalno funkcioniranje T-stanica. Nutrijente potrebne za aktivaciju i proliferaciju antitumorskih stanica troše tumorske i supresorske stanice koje luče imunosupresivne metabolite i citokine. Neke od stanica koje suprimiraju odgovor antitumorskih

stanica T su: antigen predočne stanice, T regulatorne stanice, M2 makrofagi i mijeloidne supresorske stanice. Kratice: PGE₂ - prostaglandin E₂; APC - antigen predočne stanice; T_{reg} stanice - T regulatorne stanice; MDSC - mijeloidne supresorske stanice; TGFβ - transformirajući čimbenik rasta β; IL-6/IL-10 - interleukin 6/interleukin 10; VEGF - čimbenik rasta krvožilnog endotela. (Preuzeto i prilagođeno prema Speiser i sur., 2016)

Jedan od razloga disfunkcije stanica T u tumorskom, upalnom i infekcijom zahvaćenom tkivu su mijeloidne supresorske stanice (MDSC, engl. *myeloid-derived suppressor cells*), urođene limfoidne stanice 2 (ILC-2, engl. *innate lymphoid cells 2*) i makrofagi pridruženi tumoru (TAM, engl. *tumour-associated macrophages*) koji sintetiziraju NO, ROS-ove, peroksinitrit i arginazu 1 (Monticelli i sur., 2016). Mijeloidne supresorske stanice su heterogena populacija mijeloidnih progenitora, nezrelih makrofaga, granulocita i dendritičkih stanica, a nakupljaju se u limfoidnom i tumorskom tkivu (Gabrilovich i Nagaraj, 2009). Povišena razina arginaze 1 i iNOS u tim stanicama omogućava trošenje arginina nužnog za proliferaciju T-stanica (Bronte i Zannovello, 2005). Zanimljivo je da se u supresorskim stanicama zajedno eksprimiraju arginaza 1 i iNOS iako imaju suprotne učinke i inhibiraju funkciju jedan drugoga (objašnjeno u potpoglavlju 4.2.1.) (Caldwell i sur., 2018).

Nedostatak neke aminokiseline, u ovom slučaju arginina, zaustavlja sintezu proteina. Nakupljanje „praznih“ aminoacil-tRNA aktivira GCN2 kinazu (engl. *general control non-derepressible 2 kinase*) koja fosforilira transkripcijski inicijacijski čimbenik eIF2α. Zbog toga kompleks eIF2 ne može vezati metionil-tRNA i započeti sintezu proteina (metionin je prva aminokiselina u novosintetiziranom peptidnom lancu) (Holcik & Sonenberg, 2005; Caldwell i sur., 2018;).

Važnost arginina za funkcioniranje T-limfocita kod ljudi je dokazana nakon fizičke traume, transplatacije jetre ili razvoja tumora uslijed čega se povećava koncentracija arginaze 1 u krvi, a smanjuje koncentracija arginina (Caldwell i sur., 2018). Manjak arginina i zaustavljanje sinteze proteina ograničava sintezu IL-2 i ekspresiju biljega CD25 (receptora za IL-2) i CD3ζ. CD3ζ je transmembranska molekula pridružena specifičnom receptoru na površini limfocita T (TCR) i neophodna je za prijenos signala u stanicu nakon prepoznavanja antigena (Rodriguez i sur., 2003; Caldwell i sur., 2018). Također, T-stanice bez dostupnog arginina zaustavljaju se u G₀-G₁ fazi zbog povećane ekspresije ciklin ovisne kinaze 6 te nemogućnosti ekspresije ciklina D3 i ciklin ovisne kinaze 4. Ciklin D3 i ciklin ovisna kinaza 4 reguliraju prelazak iz G₁ u S fazu staničnog ciklusa

(Rodriguez i sur., 2010). NO potiče apoptozu T-stanica, smanjuje ekspresiju MHC II u antigen predočnim stanicama i inhibira Janus kinazu 3 (JAK3) i transkripcijski čimbenik STAT5 (engl. *signal transducer and activator of transcription 5*) koji prenose signal u T-stanicama (Bingisser i sur., 1998; Rivoltini i sur., 2002; Caldwell i sur., 2018).

U uvjetima *in vitro* dokazano je da dodatak arginina ili inhibitora arginaze poboljšava funkciju T-stanica omogućujući njihovu proliferaciju i veću ekspresiju CD3 ζ (Rodriguez i sur., 2003). Međutim, prema današnjim kliničkim istraživanjima učinkovito liječenje tumora kojima je za rast nužan arginin (akutna limfoblastična, akutna mijeloblastična leukemija, melanom, karcinom jetre i gušterače) može se postići trošenjem arginina. Takvim tumorima nedostaju argininosukcinat sintetaza ili ornitin transkarbamoilaza, enzimi koji sudjeluju u biosintetskom putu arginina te nisu eksprimirani samo u jetri kao dio ciklusa ureje i u bubrezima u kojima se vrši biosinteza većine arginina u organizmu (Fultang i sur., 2016; Caldwell i sur., 2018). Trošenje arginina u tumorskom tkivu u kliničkim se ispitivanjima postiže korištenjem arginaze 1 modificirane polietilen-glikolom (peg-A1) ili modificiranom arginin deiminazom (peg-ADI) porijeklom iz mikobakterija.

Moguće je i liječenje zaustavljanjem supresijskih mehanizama koji onemogućavaju proliferaciju funkcionalnih T-stanica. Supresijski mehanizmi mogu se zaustaviti ciljanjem inhibicijskih receptora (CTLA-1, PD-1 itd.), nepoželjnih supresijskih metabolita, arginaze 1, T_{reg} stanica, mijeloidnih supresorskih stanica (MDSC) ili M2 makrofaga (Gabrilovich & Nagaraj, 2009; Speiser i sur., 2016). Uspješni rezultati u liječenju melanoma na više od 1800 pacijenata postigli su se uporabom ipilimumaba, lijeka koji djeluje kao protutijelo na CTLA-4 (Schadendorf i sur., 2015), a pembrolizumab koji inhibira PD-1 koristi se za liječenje više tipova raka u SAD-u od 2014. godine (Garon i sur., 2015). Aktivnost mijeloidnih supresorskih stanica (MDSC) može se zaustaviti blokiranjem ekspresije arginaze 1. Jedna od metoda kojima se blokira ekspresija arginaze 1 u supresorskim stanicama je blokiranje ciklooksigenaze 2 (COX2) koja sintetizira prostaglandin E2 potreban za indukciju ekspresiju arginaze 1 u nekim tumorima (dokazano u slučaju raka pluća i dojke) (Rodriguez i sur., 2005; Sinha i sur., 2007).

Zaključno na kraju potpoglavlja o Imunosni bolestima i tumorima, arginin je aminokiselina neophodna za sintezu proteina i u tumorskim stanicama i u T-limfocitima koji imaju ulogu obrane od tumora. Arginaza 1 eksprimirana u supresorskim stanicama troši arginin te, uz ostale mehanizme supresije, ograničava proliferaciju i normalno funkcioniranje T limfocita koji zbog

toga ne mogu učinkovito ukloniti tumor, kroničnu upalu ili infekciju. Uz brojne druge metode koje se danas ispituju ili već široko koriste u liječenju tumora, bitnu ulogu imaju i terapije kojima se troši arginin dodatkom modificiranih arginaza i terapije kojima se blokira ekspresija arginaze 1. Iako su navedeni pristupi suprotnog djelovanja, u različitim tipovima tumora i pri različitim uvjetima daju obećavajuće rezultate.

Razne potencijalne metode liječenja tumora koje se temelje na regulaciji metabolizma arginina i ekspresije i aktivnosti arginaza dane su u Tablici 1.

Tablica 1. Strategije ciljanja metabolizma arginina u liječenju tumora *

A. Povećanje antitumorske funkcije T stanica smanjenjem broja i aktivnosti mijeloidnih supresorskih stanica (MDSC)
1) DFMO: smanjuje broj MDSC, inhibira aktivnost ornitin dekarboksilaze i arginaze i smanjuje sintezu poliamina
2) inhibitori arginaza: povećavaju razinu L-arginina, a smanjuju razinu L-ornitina i poliamina
3) inhibitori iNOS: smanjuju stvaranje NO
4) fosfodiesteraza-5: smanjuje ekspresiju A1 i iNOS
5) inhibitori ciklooksigenaze 2: smanjuju ekspresiju A1 i broj mijeloidnih supresorskih stanica (MDSC)
B. Smanjenje dostupnosti L-arginina za tumore auksotrofne na L-arginin (melanom, karcinom jetre, akutna limfoblastična leukemija) korištenjem enzima koji troše L-arginin
1) PEGilacija arginin deiminaze (Peg-ADI)
2) PEGilacija arginaze 1 (Peg-A1)

Kratice: DFMO – α - diflurometilornitin; iNOS – inducibilna dušik oksid sintaza; A1– arginaza 1

*(Preuzeto i prilagođeno prema Caldwell i sur., 2018)

5.4. Neurovaskularne bolesti

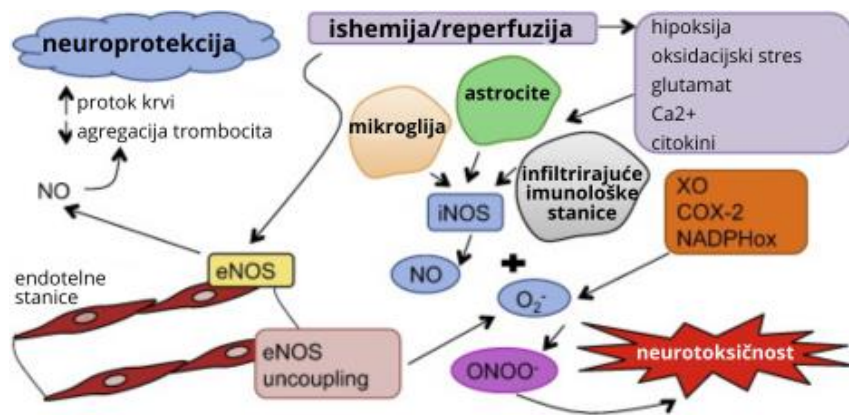
U živčanim stanicama eksprimirane su obje izoforme arginaze. Arginaza 1 povišeno je eksprimirana u većem dijelu živčanog sustava tj. u moždanoj kori, malom mozgu, ponsu, meduli i kralježničkoj moždini (Yu i sur., 2001). Također je prisutna u mrežnici, glija stanicama i krvožilnim stanicama (Patel i sur., 2013). Arginaza 2 je u većim količini eksprimirana u mrežnici u fotoreceptorskim i horizontalnim stanicama (Caldwell i sur., 2018).

Povećana aktivnost arginaza ima dvojaku ulogu u središnjem živčanom sustavu. S jedne strane povećana sinteza poliamina djeluje povoljno na rad živčanog sustava jer omogućava regeneraciju aksona u stanju bolesti ili ozljede (Caldwell i sur., 2018). Oštećene živčane stanice se u pravilu ne mogu regenerirati zbog inhibitora regeneracije kao što je glikoprotein povezan s mijelinom (MAG, engl. *myelin-associated glycoprotein*). Ekspresija arginaze 1 i sinteza putrescina omogućavaju prekidanje inhibicije i regeneraciju aksona (Cai i sur., 2002). Uloga poliamina u regeneraciji

potvrđena je u *in vivo* uvjetima u kojima je tretman spermidinom uzrokovao regeneraciju vidnog živca (Deng i sur., 2009).

S druge strane, povećana razina obiju izoformi arginaze ima negativnu ulogu u regulaciji bolesti, primjerice u Alzheimerovoj i Parkinsonovoj bolesti, multipli sklerozi, moždanom udaru, ozljedi mozga i bolesti mrežnice oka (retine) (Caldwell i sur., 2018). Jedan od razloga je smanjena sinteza NO čime je poremećena regulacija protoka krvi kroz mozak i preživljavanje živčanih stanica (Toda i sur., 2009). Ishemijsko smanjenje energije i proizvodnja oksidansa pokreću oslobađanje glutamata, što stimulira aktivnost inducibilne NOS-a (iNOS) u astrocitima, mikrogliji i infiltrirajućim upalnim stanicama. Aktivacija iNOS-a dodatno je stimulirana otpuštanjem upalnih citokina kao što su TNF α i IFN β , i staničnih signalnih putova odgovornih za odgovor na hipoksiju. Tijekom istog vremenskog razdoblja, proizvodnja superoksida je pojačana zbog odvajanja eNOS-a, mitohondrijske disfunkcije i stimulirane aktivnosti NADPH oksidaze, ksantin oksidaze (XO) i ciklooksigenaze-2 (COX-2). Krvožilni čimbenici rizika povećavaju ekspresiju i/ili aktivnost NADPH oksidaze u krvožilnoj stijenci, potičući proizvodnju ROS-a što vodi do biokemijskih promjena eNOS-a gdje iz zaštitnog enzima prelazi u oblik koji doprinosi i sudjeluje u oksidativnom stresu. Njihovi produkti (O $_2^{\cdot-}$ i NO) brzo rekombiniraju u ONOO- vodeći oksidaciji BH $_4$, esencijalni kofaktor eNOS-a, i/ili uzrokujući oksidativno oštećenje cink-tiolatnog klastera eNOS-a. Stoga je redukcija O $_2$ putem eNOS-a odvojena od stvaranja NO, a funkcionalni NOS se pretvara u nefunkcionalni enzim koji stvara O $_2^{\cdot-}$ koji pridonosi krvožilnom oksidativnom stresu (engl. *NOS uncoupling*). O $_2^{\cdot-}$ u reakciji s NO daje peroksinitrit i tako povećava oksidativni stres i mogućnost apoptoze živčanih stanica (Garry i sur., 2015; Caldwell i sur., 2018). Posljedica pojačane ekspresija eNOS-a zapravo pogoršava i stimulira daljnji oksidacijski stres. Stvaranje peroksinitrita, oštećujući lipide, proteine i DNA što značajno doprinosi neurotoksičnosti.

Različite uloge NO, eNOS i iNOS pri oštećenju živčanog tkiva prikazane su na Slici 13.



Slika 13. Uloga NO i peroksinitrita u oštećenju moždanog tkiva. U normalnim uvjetima eNOS u epitelnim stanicama u krvnim žilama sintetizira NO. Povećani protok krvi i smanjenje agregacije trombocita imaju neuroprotektivni učinak. Pod utjecajem upalnih citokina (npr. $\text{TNF}\alpha$) i drugih čimbenika mikroglija (tkivni makrofagi prisutni u mozgu), astrocite i druge Imunosne stanice eksprimiraju iNOS i troše arginin na sintezu NO. Zbog trošenja arginina eNOS u endotelnim stanicama prelazi na iskorištavanje kisika i sintezu superokida $\text{O}_2^{\cdot-}$. NO i $\text{O}_2^{\cdot-}$ zajedno sintetiziraju neurotoksični peroksinitrit $\text{ONOO}^{\cdot-}$. Kratice: iNOS – inducibilna dušik oksid sintaza; eNOS – epitelna dušik oksid sintaza; *eNOS uncoupling* – eNOS odvajanje; XO – ksantin oksidaza; COX-2 – ciklooksigenaza 2; NADPHox – NADPH oksidaza. (Preuzeto i prilagođeno prema Garry i sur., 2015)

5.4.1. Moždani udar

Oštećenje mozga izazvano moždanim udarom nastaje zbog prestanka protoka krvi (ishemije) u zahvaćenom dijelu mozga. Jedan od čimbenika koji zaustavljaju moždanu cirkulaciju je i smanjena sinteza NO (Garry i sur., 2015) do koje može doći uslijed povećane ekspresije i aktivnosti arginaze 1 (Quiirié i sur., 2013). Tijekom moždanog udara na mjestu lezije je povišena ekspresija arginaze 1 u aktiviranim glija stanicama te je poznato da ozbiljnost moždanog udara i njegovih ishoda razmjerna ekspresiji i aktivnosti arginaze 1 (Petroni i sur., 2016). Moguće je da ekspresija arginaze 1 tijekom moždanog udara i oštećenja tkiva raste kao mehanizam popravka tkiva (Caldwell i sur., 2018). Uloga arginaze 2 u oštećenju mozga nije poznata, ali zna se da se njena koncentracija ne mijenja te da ima zaštitnu ulogu u nastanku ishemije i moždanog udara. Delecijom gena za arginazu 2 povećava se volumen mozga zahvaćen ishemijom uz ozbiljnije neurološke posljedice (Ahmad i sur., 2016).

5.4.2. Traumatska ozljeda mozga

Sinteza NO mijenja se nakon traumatske ozljede mozga. Neposredno nakon ozljede (do 30 minuta) povećava se ekspresija nNOS i eNOS te količina sintetiziranog NO. Potom ekspresija enzima opada, što dovodi do opadanja razine NO i smanjenog moždanog protoka krvi (do 6 sati) (Cherian i sur., 2004). Dan nakon ozljede na mjestu ozljede se nakupljaju makrofagi s visokom razinom arginaze 1 (Hsieh i sur., 2013). Ozljeda mozga dovodi do poremećaja rada endotela i protoka krvi na sistemskoj razini. Pod utjecajem upalnih citokina povećava se ekspresija arginaze 1 u vaskularnom endotelu čime se smanjuje količina NO. Radi se o svojevrsnom „molekularnom pamćenju“ koje se javlja 24 sata nakon ozljede (Villalba i sur., 2017). Arginaza 2 također sudjeluje u remećenju rada endotela u ozljedi (Bitner i sur., 2010).

5.4.3. Alzheimerova bolest

Alzheimerova bolest najčešći je tip demencije za koju je karakteristično stvaranje β -amiloidnih nakupina u neuronima. Dosadašnja istraživanja utjecaja arginaza na patologiju Alzheimerove bolesti daju različite rezultate. Nije sigurno koja od izoformi arginaza je povišeno eksprimirana u frontalnoj kori ljudi s Alzheimerovom bolesti (Colton i sur., 2006; Hansmannel i sur., 2010). Rijetki alel gena za arginazu 2 povezan je s povećanim rizikom za razvoj Alzheimerove bolesti. Zanimljivo je da spermin stabilizira mikrotubule i potiče autofagiju prionskih agregata (Phadwal i sur., 2018) te da mikroglia stanice koje u upali razgrađuju β -amiloidne plakove eksprimiraju arginazu 1 (Cherry i sur., 2015).

5.4.4. Neurovaskularna ozljeda mrežnice

Poremećena aktivnost arginaza i dušik oksid sintaza karakteristika je brojnih bolesti mrežnice, uključujući retinopatiju nedonoščadi, dijabetičku retinopatiju, glaukom i optički neuritis, praćenih poremećajem živčanog protoka krvi. Retinopatija nedonoščadi uzrokovana je propadanjem štapića, bipolarnih i vaskularnih stanica mrežnice te neovaskularizacijom uslijed povišene koncentracije kisika (hiperoksije) (Caldwell i sur., 2018; Narayanan i sur., 2011). Arginaza 2 eksprimirana pod utjecajem upalnih čimbenika u horizontalnim i fotoreceptorskim stanicama ima ulogu u razvoju bolesti, vjerojatno kroz promjenu propusnosti mitohondrijske membrane i izlaska citokroma c čime dovodi do apoptoze u uvjetima ishemije (Narayanan i sur., 2011). Dodatno, zbog trošenja arginina na reakciju kataliziranu arginazom, iNOS i eNOS sintetiziraju superoksid te iz njega sintetizirani

peroksinitrit dodatno potiče apoptozu (Brooks i sur., 2001; Sennlaub i sur., 2001; Sennlaub i sur., 2002). Uloga nNOS još nije poznata. Utjecaj arginaze 2 na razvoj bolesti potvrđen je i u slučaju ishemijsko-reperfuzijske bolesti u mrežnici gdje arginaza 2 potiče aktivaciju glija stanica, stvaranje ROS-ova i nekroptozu (programiranu nekrozu) stanica (Shosha i sur., 2016). Pri upalnim bolestima oka patogene molekule (npr. endotoksin) potiču povećanu ekspresiju i aktivnost arginaze 1 čime se povećava oksidativni stres, raste ekspresija upalnih gena i adhezija leukocita na endotel očnih žila (Zhang i sur., 2009). Sličan je mehanizam razvoja dijabetičke retinopatije pri povišenoj razini glukoze koja inducira ekspresiju arginaze 1 (Patel i sur., 2013).

6. Inhibitori arginaza

Najčešći pristup povećanoj ekspresiji i aktivaciji arginaza u liječenju bolesti je uporaba raznih inhibitora arginaza. Terapije koje ciljaju na smanjenje učinka arginaza su u raznim fazama ispitivanja, od testiranja na kulturi stanica i laboratorijskim životinjama, do testiranja u kliničkoj fazi. Jedan od prvih inhibitora, DFMO (α -difluorometilornitin) slab je i nespecifičan inhibitor koji inhibira i ornitin dekarboksilazu i sintezu poliamina (Morris 2009). Smanjena sinteza poliamina također može imati pozitivne rezultate u liječenju jer se spermidin i spermin slabije oksidiraju do toksičnih amino aldehida i H_2O_2 . Neke aminokiseline također djeluju kao inhibitori arginaza, uključujući najjači ornitin, leucin, izoleucin, valin, lizin, citrulin, norvalin i analoge arginina NOHA (N^{ω} -hidroksi-L-arginin) i nor-NOHA (Caldwell i sur., 2018). Danas su dostupni specifičniji i jači inhibitori dizajnirani poznavanjem trodimenzionalne strukture arginaze 1 i 2 (Kanyo i sur., 1996). Među njima se ističu BEC (S-(2-boronoetil)-L-cistein) i ABH (2(S)-amino-6-boronoheksanoična kiselina) (Baggio i sur., 1999; Cox i sur., 1999).

Problem kod danas dostupnih inhibitora jer što nemaju mogućnost razlikovanja izoformi, što predstavlja izazov u liječenju patoloških stanja kod kojih arginaza 1 i 2 imaju različito djelovanje (primjerice u slučaju ateroskleroze što je opisano na Slici 11.) (Caldwell i sur., 2018). Stoga se ispituju i alternativne terapije utišavanja ekspresije arginaza pomoću antisense RNA i shRNA koje daju dobre rezultate u animalnim modelima za liječenje astma, erektilne disfunkcije i dijabetičke endotelne disfunkcije (Bivalacqua i sur., 2006; Yang i sur., 2006; Romero i sur., 2008).

Nor-NOHA, BEC i ABH su dosad korišteni u liječenju kardiovaskularnih bolesti u ljudi te daju obećavajuće rezultate (Caldwell i sur., 2018).

7. Zaključak

Arginaze 1 i 2 imaju esencijalnu ulogu u metaboličkim procesima u organizmu. Arginaza 1 u jetri sintetizira ureju kao nusprodukt katabolizma aminokiselina i proteina. Obje izoforme sintetiziraju ornitin koji služi kao prekursor za sintezu poliamina, prolina, glutamata i glutamina. Poliamini su molekule koje omogućuju proliferaciju stanica, a prolin je aminokiselina potrebna za sintezu kolagena i izvanstaničnog matriksa. Smanjena ekspresija i aktivnost arginaza, tj. arginaze 1, povećava razinu amonijaka u krvi što može imati posljedice na živčani sustav. S druge strane, povećana ekspresija i aktivnost arginaza veže se uz razvoj brojnih kardiovaskularnih, neurovaskularnih, bubrežnih i kroničnih upalnih bolesti i tumora. Jedan od uzroka bolesti je i poremećena sinteza dušikovog (II) oksida zbog kompetiranja arginaza i dušik oksid sintaza za arginin. Deficit dušikovog (II) oksida onemogućava normalnu vazorelaksaciju i rad endotelnih stanica krvnih žila čime potiče razvoj sistemskog, bubrežnog i plućnog visokog tlaka, a olakšava i razvoj moždanog udara i infarkta miokarda. U tumorima i kroničnim upalnim bolestima arginaza 1 služi kao jedan od supresijskih mehanizama u utišavanju imunosne reakcije. Za razvoj uspješnih inhibitora arginaza potrebna su daljnja istraživanja kojima bi se razjasnile razlike između izoformi u mehanizmu katalize, tkivnoj raspodjeli i zastupljenosti u bolestima. Zbog različitih pozitivnih i negativnih uloga obje izoforme u različitim tkivima, specifični inhibitor mora djelovati samo u tkivu zahvaćenom bolesti bez remećenja ciklusa ureje, sinteze kolagena i proliferacije zdravog tkiva. Korištenje arginaza kao meta u liječenju otvara velike mogućnosti u liječenju nekih od danas najčešćih i najizazovnijih bolesti.

8. Literatura

1. Abbas, K., Lichtman, A. & Pillai, S. (2018) Cellular and Molecular Immunology. 9th Edition, Elsevier, Amsterdam
2. Ahmad, A.S. & Ahmad Shah, Z. (2016) 'Protective role of arginase ii in cerebral ischemia and excitotoxicity', *Journal of Neurology and Neuroscience*, 7(2). Dostupno na: <https://doi.org/10.21767/2171-6625.100088>.
3. Baggio, R., Emig, F. A., Christianson, D. W., Ash, D. E., Chakder, S., & Rattan, S. (1999). Biochemical and functional profile of a newly developed potent and isozyme-selective arginase inhibitor. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 290(3), 1409–1416.
4. Bagnost, T., Ma, L., da Silva, R. F., Rezakhaniha, R., Houdayer, C., Stergiopoulos, N., André, C., Guillaume, Y., Berthelot, A., & Demougeot, C. (2010) 'Cardiovascular effects of arginase inhibition in spontaneously hypertensive rats with fully developed hypertension', *Cardiovascular Research*, 87(3), pp. 569–577. Dostupno na: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq081>.
5. Barbul, A. (1986) 'Arginine: Biochemistry, Physiology, and Therapeutic Implications', *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, pp. 227–238. Dostupno na: <https://doi.org/10.1177/0148607186010002227>.
6. Basu, H. S., Wright, W. D., Deen, D. F., Roti-Roti, J., & Marton, L. J. (1993) 'Treatment with a polyamine analog alters DNA-matrix association in HeLa cell nuclei: A nucleoid halo assay', *Biochemistry*, 32(15), pp. 4073–4076. Dostupno na: <https://doi.org/10.1021/bi00066a031>.
7. Beckman, J.S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A., & Freeman, B. A. (1990) 'Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and

- superoxide.’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(4), pp. 1620–1624. Dostupno na: <https://doi.org/10.1073/pnas.87.4.1620>.
8. Beleznai, T., Feher, A., Spielvogel, D., Lansman, S. L., & Bagi, Z. (2011) ‘Arginase 1 contributes to diminished coronary arteriolar dilation in patients with diabetes’, *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(3), pp. H777–H783. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00831.2010>.
 9. Beninati, S., Gentile, V., Caraglia, M., Lentini, A., Tagliaferri, P., & Abbruzzese, A. (1998) ‘Tissue transglutaminase expression affects hypusine metabolism in BALB/c 3T3 cells’, *FEBS Letters*, 437(1–2), pp. 34–38. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)01191-0](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01191-0).
 10. Berkowitz, D. E., White, R., Li, D., Minhas, K. M., Cernetich, A., Kim, S., Burke, S., Shoukas, A. A., Nyhan, D., Champion, H. C., & Hare, J. M. (2003) ‘Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels’, *Circulation*, 108(16), pp. 2000–2006. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000092948.04444.C7>.
 11. Bhatta, A., Yao, L., Toque, H. A., Shatanawi, A., Xu, Z., Caldwell, R. B., & Caldwell, R. W. (2015) ‘Angiotensin II-induced arterial thickening, fibrosis and stiffening involves elevated arginase function’, *PLOS ONE*. Edited by D. Jourdain, 10(3), p. e0121727. Dostupno na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121727>.
 12. Bingisser, R. M., Tilbrook, P. A., Holt, P. G., & Kees, U. R. (1998) ‘Macrophage-derived nitric oxide regulates T cell activation via reversible disruption of the Jak3/STAT5 signaling pathway’. *Journal of Immunology*, 160(12), pp.5729–5734.
 13. Bitner, B. R., Brink, D. C., Mathew, L. C., Pautler, R. G., & Robertson, C. S. (2010) ‘Impact of arginase II on CBF in experimental cortical impact injury in mice using MRI’, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 30(6), pp. 1105–1109. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.47>.
 14. Bivalacqua, T. J., Burnett, A. L., Hellstrom, W. J., & Champion, H. C. (2007) ‘Overexpression of arginase in the aged mouse penis impairs erectile function and decreases eNOS activity: influence of in vivo gene therapy of anti-arginase’, *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 292(3), pp. H1340–H1351. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00121.2005>.
 15. Braissant, O., McLin, V.A. & Cudalbu, C. (2013) ‘Ammonia toxicity to the brain’, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 36(4), pp. 595–612. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10545-012-9546-2>.
 16. Bronte, V. & Zanovello, P. (2005) ‘Regulation of immune responses by L-arginine metabolism’, *Nature Reviews Immunology*, 5(8), pp. 641–654. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/nri1668>.
 17. Brooks, S. E., Gu, X., Samuel, S., Marcus, D. M., Bartoli, M., Huang, P. L., & Caldwell, R. B. (2001). Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in eNOS-deficient mice. *Investigative ophthalmology & visual science*, 42(1), 222–228.
 18. Cai, D., Deng, K., Mellado, W., Lee, J., Ratan, R. R., & Filbin, M. T. (2002) ‘Arginase i and polyamines act downstream from cyclic amp in overcoming inhibition of axonal growth mag and myelin in vitro’, *Neuron*, 35(4), pp. 711–719. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00826-7](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00826-7).
 19. Caldwell, R. W., Rodriguez, P. C., Toque, H. A., Narayanan, S. P., & Caldwell, R. B. (2018) ‘Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease’, *Physiol Rev*, 98, pp. 641–665. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2016>.
 20. Carretero, O.A. & Oparil, S. (2000) ‘Essential hypertension: part i: definition and etiology’, *Circulation*, 101(3), pp. 329–335. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.101.3.329>.
 21. De Caterina, R., Libby, P., Peng, H. B., Thannickal, V. J., Rajavashisth, T. B., Gimbrone, M. A., Jr, Shin, W. S., & Liao, J. K. (1995) ‘Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines.’, *Journal of Clinical Investigation*, 96(1), pp. 60–68. Dostupno na: <https://doi.org/10.1172/JCI118074>.
 22. Charles, L., Triscott, J., & Dobbs, B. (2017) ‘Secondary Hypertension: Discovering the Underlying Cause’, *American family physician*, 96(7), pp.453–461
 23. Chen, B., Calvert, A. E., Cui, H., & Nelin, L. D. (2009) ‘Hypoxia promotes human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation through induction of arginase’, *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 297(6), pp. L1151–L1159. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00183.2009>.
 24. Chen, B., Calvert, A. E., Meng, X., & Nelin, L. D. (2012) ‘Pharmacologic agents elevating camp prevent arginase ii expression and proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells’, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 47(2), pp. 218–226. Dostupno na: <https://doi.org/10.1165/rcmb.2011-00150C>.
 25. Cherian, L., Hlatky, R. & Robertson, C.S. (2004) ‘Nitric oxide in traumatic brain injury’, *Brain Pathology*, 14(2), pp. 195–201. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00053.x>.

26. Cherry, J.D., Olschowka, J.A. & O'Banion, M.K. (2015) 'Arginase 1+ microglia reduce A β plaque deposition during IL-1 β -dependent neuroinflammation', *Journal of Neuroinflammation*, 12(1), p. 203. Dostupno na: <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0411-8>.
27. Cheung, C. W. & Rajjman, L. (1981) 'Arginine, mitochondrial arginase, and the control of carbamyl phosphate synthesis', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 209(2), pp. 643–649. Available at: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(81\)90324-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(81)90324-6).
28. Cheung, C. W., Cohen, N.S. & Rajjman, L. (1989) 'Channeling of urea cycle intermediates in situ in permeabilized hepatocytes', *Journal of Biological Chemistry*, 264(7), pp. 4038–4044. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)84958-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)84958-x).
29. Cho, W. K., Lee, C. M., Kang, M. J., Huang, Y., Giordano, F. J., Lee, P. J., Trow, T. K., Homer, R. J., Sessa, W. C., Elias, J. A., & Lee, C. G. (2013) 'IL-13 receptor α_2 -arginase 2 pathway mediates IL-13-induced pulmonary hypertension', *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 304(2), pp. L112–L124. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00101.2012>.
30. Chu, Y., XiangLi, X., Niu, H., Wang, H., Jia, P., Gong, W., Wu, D., Qin, W., & Xing, C. (2016) 'Arginase inhibitor attenuates pulmonary artery hypertension induced by hypoxia', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 412(1–2), pp. 91–99. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s11010-015-2611-z>.
31. Cohen, N.S., Cheung, C.W. & Rajjman, L. (1987) 'Channeling of extramitochondrial ornithine to matrix ornithine transcarbamylase', *Journal of Biological Chemistry*, 262(1), pp. 203–208. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)75910-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)75910-9).
32. Colton, C. A., Mott, R. T., Sharpe, H., Xu, Q., Van Nostrand, W. E., & Vitek, M. P. (2006) 'Expression profiles for macrophage alternative activation genes in AD and in mouse models of AD', *Journal of Neuroinflammation*, 3(1), p. 27. Dostupno na: <https://doi.org/10.1186/1742-2094-3-27>.
33. Cowburn, A. S., Crosby, A., Macias, D., Branco, C., Colaço, R. D., Southwood, M., Toshner, M., Crotty Alexander, L. E., Morrell, N. W., Chilvers, E. R., & Johnson, R. S. (2016) 'HIF2 α -arginase axis is essential for the development of pulmonary hypertension', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(31), pp. 8801–8806. Dostupno na: <https://doi.org/10.1073/pnas.1602978113>.
34. Cox, J. D., Kim, N. N., Traish, A. M., & Christianson, D. W. (1999). Arginase-boronic acid complex highlights a physiological role in erectile function. *Nature structural biology*, 6(11), 1043–1047. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/14929>
35. Dal-Ros, S., Bronner, C., Auger, C., & Schini-Kerth, V. B. (2012) 'Red wine polyphenols improve an established aging-related endothelial dysfunction in the mesenteric artery of middle-aged rats: Role of oxidative stress', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 419(2), pp. 381–387. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.02.031>.
36. Davis, T.A., Fiorotto, M.L. & Reeds, P.J. (1993) 'Amino acid compositions of body and milk protein change during the suckling period in rats', *The Journal of Nutrition*, 123(5), pp. 947–956. Available at: <https://doi.org/10.1093/jn/123.5.947>.
37. Deng, K., He, H., Qiu, J., Lorber, B., Bryson, J. B., & Filbin, M. T. (2009) 'Increased synthesis of spermidine as a result of upregulation of arginase i promotes axonal regeneration in culture and *in vivo*', *The Journal of Neuroscience*, 29(30), pp. 9545–9552. Dostupno na: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1175-09.2009>.
38. Dhanakoti, S.N., Brosnan, M. E., Herzberg, G. R., & Brosnan, J. T. (1992) 'Cellular and subcellular localization of enzymes of arginine metabolism in rat kidney', *Biochemical Journal*, 282(2), pp. 369–375. Available at: <https://doi.org/10.1042/bj2820369>.
39. Dimski, D.S. (1994) 'Ammonia Metabolism and the Urea Cycle: Function and Clinical Implications', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, pp. 73–78. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1994.tb03201.x>.
40. Dizikes, G. J., Grody, W. W., Kern, R. M., & Cederbaum, S. D. (1986) 'Isolation of human liver arginase cdna and demonstration of nonhomology between the two human arginase genes', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 141(1), pp. 53–59. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(86\)80333-3](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(86)80333-3).
41. Durante, W. (2013) 'Role of arginase in vessel wall remodeling', *Frontiers in Immunology*, 4. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00111>.
42. Dutta, A., Mazumder, M., Alam, M., Gourinath, S., & Sau, A. K. (2019) 'Metal-induced change in catalytic loop positioning in Helicobacter pylori arginase alters catalytic function', *Biochemical Journal*, 476(23), pp. 3595–3614. Dostupno na: <https://doi.org/10.1042/BCJ20190545>.
43. Dzik, J.M. (2014) 'Evolutionary roots of arginase expression and regulation', *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00544>.

44. Elms, S. C., Toque, H. A., Rojas, M., Xu, Z., Caldwell, R. W., & Caldwell, R. B. (2013) 'The role of arginase I in diabetes-induced retinal vascular dysfunction in mouse and rat models of diabetes', *Diabetologia*, 56(3), pp. 654–662. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2789-5>.
45. Esch, F., Lin, K. I., Hills, A., Zaman, K., Baraban, J. M., Chatterjee, S., Rubin, L., Ash, D. E., & Ratan, R. R. (1998) 'Purification of a multipotent antideath activity from bovine liver and its identification as arginase: nitric oxide-independent inhibition of neuronal apoptosis', *The Journal of Neuroscience*, 18(11), pp. 4083–4095. Dostupno na: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-11-04083.1998>.
46. Fultang, L., Vardon, A., De Santo, C., & Mussai, F. (2016) 'Molecular basis and current strategies of therapeutic arginine depletion for cancer: Arginine deprivation therapy', *International Journal of Cancer*, 139(3), pp. 501–509. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/ijc.30051>.
47. Gabilovich, D.I. & Nagaraj, S. (2009) 'Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system', *Nature Reviews Immunology*, 9(3), pp. 162–174. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/nri2506>.
48. Garon, E. B., Rizvi, N. A., Hui, R., Leighl, N., Balmanoukian, A. S., Eder, J. P., Patnaik, A., Aggarwal, C., Gubens, M., Horn, L., Carcereny, E., Ahn, M. J., Felip, E., Lee, J. S., Hellmann, M. D., Hamid, O., Goldman, J. W., Soria, J. C., Dolled-Filhart, M., Rutledge, R. Z., Zhang, J., Luceford, J. K., Rangwala, R., Lubiniecki, G. M., Roach, C., Emancipator, K., & Gandhi, L., (2015) 'Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer', *New England Journal of Medicine*, 372(21), pp. 2018–2028. Dostupno na: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1501824>.
49. Garry, P. S., Ezra, M., Rowland, M. J., Westbrook, J., & Pattinson, K. T. (2015) 'The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment — From bench to bedside', *Experimental Neurology*, 263, pp. 235–243. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.10.017>.
50. Gonon, A. T., Jung, C., Katz, A., Westerblad, H., Shemyakin, A., Sjöquist, P. O., Lundberg, J. O., & Pernow, J. (2012) 'Local arginase inhibition during early reperfusion mediates cardioprotection via increased nitric oxide production', *PLoS ONE*. Edited by F. Gallyas, 7(7), p. e42038. Dostupno na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042038>.
51. Gotoh, T., Sonoki, T., Nagasaki, A., Terada, K., Takiguchi, M., & Mori, M. (1996) '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 Letters*, 395(2–3), pp. 119–122. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)01015-0](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)01015-0).
52. Grasmann, H., Dhaliwal, R., Ivanovska, J., Kantores, C., McNamara, P. J., Scott, J. A., Belik, J., & Jankov, R. P. (2015) 'Arginase inhibition prevents bleomycin-induced pulmonary hypertension, vascular remodeling, and collagen deposition in neonatal rat lungs', *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 308(6), pp. L503–L510. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00328.2014>.
53. Grimes, J. M., Khan, S., Badeaux, M., Rao, R. M., Rowlinson, S. W., & Carvajal, R. D. (2021) 'Arginine depletion as a therapeutic approach for patients with COVID-19', *International Journal of Infectious Diseases*, 102, pp. 566–570. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.100>.
54. Grönros, J., Jung, C., Lundberg, J. O., Cerrato, R., Ostenson, C. G., & Pernow, J. (2011) 'Arginase inhibition restores in vivo coronary microvascular function in type 2 diabetic rats', *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(4), pp. H1174–H1181. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00560.2010>.
55. Grönros, J., Kiss, A., Palmér, M., Jung, C., Berkowitz, D., & Pernow, J. (2013) 'Arginase inhibition improves coronary microvascular function and reduces infarct size following ischaemia-reperfusion in a rat model', *Acta Physiologica*, 208(2), pp. 172–179. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/apha.12097>.
56. Gropman, A.L., Summar, M. & Leonard, J. V. (2007) 'Neurological implications of urea cycle disorders', *Journal of Inherited Metabolic Disease*. Springer Netherlands, pp. 865–879. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s10545-007-0709-5>.
57. Ha, H. C., Woster, P. M., Yager, J. D., & Casero, R. A., Jr (1997) 'The role of polyamine catabolism in polyamine analogue-induced programmed cell death', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(21), pp. 11557–11562. Dostupno na: <https://doi.org/10.1073/pnas.94.21.11557>.
58. Hamana, K. & Matsuzaki, S. (1992) 'Polyamines as a chemotaxonomic marker in bacterial systematics', *Critical Reviews in Microbiology*, 18(4), pp. 261–283. Dostupno na: <https://doi.org/10.3109/10408419209113518>.
59. Hansmannel, F., Sillaire, A., Kamboh, M. I., Lendon, C., Pasquier, F., Hannequin, D., Laumet, G., Mounier, A., Ayrat, A. M., DeKosky, S. T., Hauw, J. J., Berr, C., Mann, D., Amouyel, P., Campion, D., & Lambert, J. C. (2010) 'Is the urea cycle involved in alzheimer's disease?', *Journal of Alzheimer's Disease*, 21(3), pp. 1013–1021. Dostupno na: <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-100630>.

60. Haskins, N., Bhuvanendran, S., Anselmi, C., Gams, A., Kanholm, T., Kocher, K. M., LoTempio, J., Krohmaly, K. I., Sohail, D., Stearrett, N., Bonner, E., Tuchman, M., Morizono, H., Jaiswal, J. K., & Caldovic, L. (2021) 'Mitochondrial enzymes of the urea cycle cluster at the inner mitochondrial membrane', *Frontiers in Physiology*, 11, p. 542950. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.542950>.
61. Hausenloy, D.J. & Yellon, D.M. (2013) 'Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target', *Journal of Clinical Investigation*, 123(1), pp. 92–100. Dostupno na: <https://doi.org/10.1172/JCI62874>.
62. Heby, O. (1981) 'Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation', *Differentiation*, 19(1–3), pp. 1–20. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/j.1432-0436.1981.tb01123.x>.
63. Hecker, M., Mitchell, J. A., Harris, H. J., Katsura, M., Thiemermann, C., & Vane, J. R. (1990) 'Endothelial cells metabolize NG -monomethyl-L-arginine to L-citrulline and subsequently to L-arginine', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 167(3), pp. 1037–1043. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(90\)90627-Y](https://doi.org/10.1016/0006-291X(90)90627-Y).
64. Holcik, M. & Sonenberg, N. (2005) 'Translational control in stress and apoptosis', *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(4), pp. 318–327. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/nrm1618>.
65. Hsieh, C. L., Kim, C. C., Ryba, B. E., Niemi, E. C., Bando, J. K., Locksley, R. M., Liu, J., Nakamura, M. C., & Seaman, W. E. (2013) 'Traumatic brain injury induces macrophage subsets in the brain', *European Journal of Immunology*, 43(8), pp. 2010–2022. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/eji.201243084>.
66. Humbert, M., Morrell, N. W., Archer, S. L., Stenmark, K. R., MacLean, M. R., Lang, I. M., Christman, B. W., Weir, E. K., Eickelberg, O., Voelkel, N. F., Rabinovitch, M. (2004) 'Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension', *Journal of the American College of Cardiology*, 43(12), pp. S13–S24. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.02.029>.
67. Kaesemeyer, W. H., Ogonowski, A. A., Jin, L., Caldwell, R. B., & Caldwell, R. W. (2000) 'Endothelial nitric oxide synthase is a site of superoxide synthesis in endothelial cells treated with glyceryl trinitrate', *British Journal of Pharmacology*, 131(5), pp. 1019–1023. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703665>.
68. Kanyo, Z. F., Scolnick, L. R., Ash, D. E., & Christianson, D. W. (1996) 'Structure of a unique binuclear manganese cluster in arginase', *Nature*, 383(6600), pp. 554–557. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/383554a0>.
69. Kato, G.J., Steinberg, M.H. & Gladwin, M.T. (2017) 'Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease', *Journal of Clinical Investigation*, 127(3), pp. 750–760. Dostupno na: <https://doi.org/10.1172/JCI89741>.
70. Katusic, Z.S., d'Uscio, L.V. & Nath, K.A. (2009) 'Vascular protection by tetrahydrobiopterin: progress and therapeutic prospects', *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(1), pp. 48–54. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.10.003>.
71. Kim, P. S., Iyer, R. K., Lu, K. V., Yu, H., Karimi, A., Kern, R. M., Tai, D. K., Cederbaum, S. D., & Grody, W. W. (2002) 'Expression of the liver form of arginase in erythrocytes', *Molecular Genetics and Metabolism*, 76(2), pp. 100–110. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1096-7192\(02\)00034-3](https://doi.org/10.1016/S1096-7192(02)00034-3).
72. Kövamees, O., Shemyakin, A. & Pernow, J. (2016) 'Amino acid metabolism reflecting arginase activity is increased in patients with type 2 diabetes and associated with endothelial dysfunction', *Diabetes and Vascular Disease Research*, 13(5), pp. 354–360. Dostupno na: <https://doi.org/10.1177/1479164116643916>.
73. Lee, J., Ryu, H., Ferrante, R. J., Morris, S. M., Jr, & Ratan, R. R. (2003) 'Translational control of inducible nitric oxide synthase expression by arginine can explain the arginine paradox', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(8), pp. 4843–4848. Dostupno na: <https://doi.org/10.1073/pnas.0735876100>.
74. Lerman, A. & Zeiher, A.M. (2005) 'Endothelial function: cardiac events', *Circulation*, 111(3), pp. 363–368. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000153339.27064.14>.
75. Li, Z., Wang, L., Ren, Y., Huang, Y., Liu, W., Lv, Z., Qian, L., Yu, Y., & Xiong, Y. (2022) 'Arginase: shedding light on the mechanisms and opportunities in cardiovascular diseases', *Cell Death Discovery*, 8(1), p. 413. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01200-4>.
76. Lucas, R., Fulton, D., Caldwell, R. W., & Romero, M. J. (2014) 'Arginase in the vascular endothelium: friend or foe?', *Frontiers in Immunology*, 5. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00589>.
77. Mantovani, A., Sica, A., Sozzani, S., Allavena, P., Vecchi, A., & Locati, M. (2004) 'The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization', *Trends in Immunology*, 25(12), pp. 677–686. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.it.2004.09.015>.
78. Martí i Líndez, A.A. & Reith, W. (2021) 'Arginine-dependent immune responses', *Cellular and Molecular Life Sciences*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, pp. 5303–5324. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03828-4>.

79. Matthews, H.R. (1993) 'My favourite molecule: Polyamines, chromatin structure and transcription', *BioEssays*, 15(8), pp. 561–566. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/bies.950150811>.
80. Ming, X. F., Barandier, C., Viswambharan, H., Kwak, B. R., Mach, F., Mazzolai, L., Hayoz, D., Ruffieux, J., Rusconi, S., Montani, J. P., & Yang, Z. (2004) 'Thrombin stimulates human endothelial arginase enzymatic activity via rhoa/rock pathway: implications for atherosclerotic endothelial dysfunction', *Circulation*, 110(24), pp. 3708–3714. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000142867.26182.32>.
81. Monné, M., Vozza, A., Lasorsa, F. M., Porcelli, V., & Palmieri, F. (2019) 'Mitochondrial carriers for aspartate, glutamate and other amino acids: a review', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), p. 4456. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/ijms20184456>.
82. Monticelli, L. A., Buck, M. D., Flamar, A. L., Saenz, S. A., Tait Wojno, E. D., Yudanin, N. A., Osborne, L. C., Hepworth, M. R., Tran, S. V., Rodewald, H. R., Shah, H., Cross, J. R., Diamond, J. M., Cantu, E., Christie, J. D., Pearce, E. L., & Artis, D. (2016) 'Arginase 1 is an innate lymphoid-cell-intrinsic metabolic checkpoint controlling type 2 inflammation', *Nature Immunology*, 17(6), pp. 656–665. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/ni.3421>.
83. Morris, S.M., Bhamidipati, D. & Kepka-Lenhart, D. (1997) 'Human type II arginase: sequence analysis and tissue-specific expression', *Gene*, 193(2), pp. 157–161. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(97\)00099-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(97)00099-1).
84. Morris, C.R. (2006) 'New strategies for the treatment of pulmonary hypertension in sickle cell disease: the rationale for arginine therapy', *Treatments in Respiratory Medicine*, 5(1), pp. 31–45. Dostupno na: <https://doi.org/10.2165/00151829-200605010-00003>.
85. Morris Jr, S.M. (2009) 'Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases', *British Journal of Pharmacology*, 157(6), pp. 922–930. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00278.x>.
86. Morris, S. M., Jr, Gao, T., Cooper, T. K., Kepka-Lenhart, D., & Awad, A. S. (2011) 'Arginase-2 mediates diabetic renal injury', *Diabetes*, 60(11), pp. 3015–3022. Dostupno na: <https://doi.org/10.2337/db11-0901>.
87. Narayanan, S. P., Suwanpradid, J., Saul, A., Xu, Z., Still, A., Caldwell, R. W., & Caldwell, R. B. (2011) 'Arginase 2 deletion reduces neuro-glial injury and improves retinal function in a model of retinopathy of prematurity', *PLoS ONE*. Edited by C. Emanuelli, 6(7), p. e22460. Dostupno na: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022460>.
88. Nelson, D.L., Cox, M.M. & Lehninger, A.L. (2021) *Lehninger principles of biochemistry*. 8th edition, New York: WH Freeman
89. Palmer, R.M.J., Ashton, D.S. & Moncada, S. (1988) 'Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine', *Nature*, 333(6174), pp. 664–666. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/333664a0>.
90. Pandey, D., Bhunia, A., Oh, Y. J., Chang, F., Bergman, Y., Kim, J. H., Serbo, J., Boronina, T. N., Cole, R. N., Van Eyk, J., Remaley, A. T., Berkowitz, D. E., & Romer, L. H. (2014a) 'Oxldl triggers retrograde translocation of arginase2 in aortic endothelial cells via rock and mitochondrial processing peptidase', *Circulation Research*, 115(4), pp. 450–459. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.304262>.
91. Pandey, D., Sikka, G., Bergman, Y., Kim, J. H., Ryoo, S., Romer, L., & Berkowitz, D. (2014b) 'Transcriptional regulation of endothelial arginase 2 by histone deacetylase 2', *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 34(7), pp. 1556–1566. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303685>.
92. Patel, C., Rojas, M., Narayanan, S. P., Zhang, W., Xu, Z., Lemtalsi, T., Jittiporn, K., Caldwell, R. W., & Caldwell, R. B. (2013) 'Arginase as a mediator of diabetic retinopathy', *Frontiers in Immunology*, 4. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00173>.
93. Pedrazini, M. C., Martinez, E. F., dos Santos, V. A. B., & Groppo, F. C. (2024) 'L-arginine: its role in human physiology, in some diseases and mainly in viral multiplication as a narrative literature review', *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), p. 99. Available at: <https://doi.org/10.1186/s43094-024-00673-7>.
94. Pegg, A.E. & McCann, P.P. (1982) 'Polyamine metabolism and function', *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 243(5), pp. C212–C221. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1982.243.5.C212>.
95. Petrone, A. B., O'Connell, G. C., Regier, M. D., Chantler, P. D., Simpkins, J. W., & Barr, T. L. (2016) 'The role of arginase 1 in post-stroke immunosuppression and ischemic stroke severity', *Translational Stroke Research*, 7(2), pp. 103–110. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s12975-015-0431-9>.
96. Phadwal, K., Kurian, D., Salamat, M. K. F., MacRae, V. E., Diack, A. B., & Manson, J. C. (2018) 'Spermine increases acetylation of tubulins and facilitates autophagic degradation of prion aggregates', *Scientific Reports*, 8(1), p. 10004. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28296-y>.

97. Pollock, J. S., Förstermann, U., Mitchell, J. A., Warner, T. D., Schmidt, H. H., Nakane, M., & Murad, F. (1991) 'Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells.', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(23), pp. 10480–10484. Dostupno na: <https://doi.org/10.1073/pnas.88.23.10480>.
98. Potoka, K.P. & Gladwin, M.T. (2015) 'Vasculopathy and pulmonary hypertension in sickle cell disease', *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 308(4), pp. L314–L324. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajplung.00252.2014>.
99. Powers-Lee, S.G., Mastico, R.A. & Bendayan, M. (1987) 'The interaction of rat liver carbamoyl phosphate synthetase and ornithine transcarbamoylase with inner mitochondrial membranes.', *The Journal of biological chemistry*, 262(32), pp. 15683–15688. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)47781-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)47781-2).
100. Poznyak, A. V., Nikiforov, N. G., Markin, A. M., Kashirskikh, D. A., Myasoedova, V. A., Gerasimova, E. V., & Orekhov, A. N. (2021) 'Overview of oxldl and its impact on cardiovascular health: focus on atherosclerosis', *Frontiers in Pharmacology*, 11, p. 613780. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.613780>.
101. Quirié, A., Demougeot, C., Bertrand, N., Mossiat, C., Garnier, P., Marie, C., & Prigent-Tessier, A. (2013) 'Effect of stroke on arginase expression and localization in the rat brain', *European Journal of Neuroscience*, 37(7), pp. 1193–1202. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/ejn.12111>.
102. Rivoltini, L., Carrabba, M., Huber, V., Castelli, C., Novellino, L., Dalerba, P., Mortarini, R., Arancia, G., Anichini, A., Fais, S., & Parmiani, G. (2002) 'Immunity to cancer: attack and escape in T lymphocyte–tumor cell interaction', *Immunological Reviews*, 188(1), pp. 97–113. Dostupno na: <https://doi.org/10.1034/j.1600-065X.2002.18809.x>.
103. Rodriguez, P. C., Zea, A. H., DeSalvo, J., Culotta, K. S., Zabaleta, J., Quiceno, D. G., Ochoa, J. B., & Ochoa, A. C. (2003) 'L-arginine consumption by macrophages modulates the expression of cd3ζ chain in t lymphocytes', *The Journal of Immunology*, 171(3), pp. 1232–1239. Dostupno na: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.3.1232>.
104. Rodriguez, P. C., Hernandez, C. P., Quiceno, D., Dubinett, S. M., Zabaleta, J., Ochoa, J. B., Gilbert, J., & Ochoa, A. C. (2005) 'Arginase I in myeloid suppressor cells is induced by COX-2 in lung carcinoma', *The Journal of Experimental Medicine*, 202(7), pp. 931–939. Dostupno na: <https://doi.org/10.1084/jem.20050715>.
105. Rodriguez, P. C., Hernandez, C. P., Morrow, K., Sierra, R., Zabaleta, J., Wyczechowska, D. D., & Ochoa, A. C. (2010) 'L-arginine deprivation regulates cyclin d3 mrna stability in human t cells by controlling hur expression', *The Journal of Immunology*, 185(9), pp. 5198–5204. Dostupno na: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001224>.
106. Romero, M. J., Platt, D. H., Tawfik, H. E., Labazi, M., El-Remessy, A. B., Bartoli, M., Caldwell, R. B., & Caldwell, R. W. (2008) 'Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity', *Circulation Research*, 102(1), pp. 95–102. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.155028>.
107. Ryoo, S., Lemmon, C. A., Soucy, K. G., Gupta, G., White, A. R., Nyhan, D., Shoukas, A., Romer, L. H., & Berkowitz, D. E. (2006) 'Oxidized low-density lipoprotein–dependent endothelial arginase ii activation contributes to impaired nitric oxide signaling', *Circulation Research*, 99(9), pp. 951–960. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000247034.24662.b4>.
108. Santhanam, L., Lim, H. K., Lim, H. K., Miriel, V., Brown, T., Patel, M., Balanson, S., Ryoo, S., Anderson, M., Irani, K., Khanday, F., Di Costanzo, L., Nyhan, D., Hare, J. M., Christianson, D. W., Rivers, R., Shoukas, A., & Berkowitz, D. E. (2007) 'Inducible no synthase–dependent s-nitrosylation and activation of arginase I contribute to age-related endothelial dysfunction', *Circulation Research*, 101(7), pp. 692–702. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.157727>.
109. Satriano, J. (2004) 'Arginine pathways and the inflammatory responses: Interregulation of nitric oxide and polyamines. Review article', in *Amino Acids*, pp. 321–329. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s00726-004-0078-4>.
110. Schadendorf, D., Hodi, F. S., Robert, C., Weber, J. S., Margolin, K., Hamid, O., Patt, D., Chen, T. T., Berman, D. M., & Wolchok, J. D. (2015) 'Pooled analysis of long-term survival data from phase ii and phase iii trials of ipilimumab in unresectable or metastatic melanoma', *Journal of Clinical Oncology*, 33(17), pp. 1889–1894. Dostupno na: <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.2736>.
111. Schnorr, O., Brossette, T., Momma, T. Y., Kleinbongard, P., Keen, C. L., Schroeter, H., & Sies, H. (2008) 'Cocoa flavanols lower vascular arginase activity in human endothelial cells in vitro and in erythrocytes in vivo', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 476(2), pp. 211–215. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.02.040>.

112. Schuber, F. (1989) 'Influence of polyamines on membrane functions', *Biochemical Journal*, 260(1), pp. 1–10. Dostupno na: <https://doi.org/10.1042/bj2600001>.
113. Sennlaub, F., Courtois, Y. & Goureau, O. (2001) 'Inducible nitric oxide synthase mediates the change from retinal to vitreal neovascularization in ischemic retinopathy', *Journal of Clinical Investigation*, 107(6), pp. 717–725. Dostupno na: <https://doi.org/10.1172/JCI10874>.
114. Sennlaub, F., Courtois, Y. & Goureau, O. (2002) 'Inducible nitric oxide synthase mediates retinal apoptosis in ischemic proliferative retinopathy', *The Journal of Neuroscience*, 22(10), pp. 3987–3993. Dostupno na: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-10-03987.2002>.
115. Shemyakin, A., Kövamees, O., Rafnsson, A., Böhm, F., Svenarud, P., Settergren, M., Jung, C., & Pernow, J. (2012) 'Arginase inhibition improves endothelial function in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus', *Circulation*, 126(25), pp. 2943–2950. Dostupno na: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.140335>.
116. Shin, W., Berkowitz, D.E. & Ryoo, S. (2012) 'Increased arginase II activity contributes to endothelial dysfunction through endothelial nitric oxide synthase uncoupling in aged mice', *Experimental & Molecular Medicine*, 44(10), p. 594. Dostupno na: <https://doi.org/10.3858/emm.2012.44.10.068>.
117. Shosha, E., Xu, Z., Yokota, H., Saul, A., Rojas, M., Caldwell, R. W., Caldwell, R. B., & Narayanan, S. P. (2016) 'Arginase 2 promotes neurovascular degeneration during ischemia/reperfusion injury', *Cell Death & Disease*, 7(11), pp. e2483–e2483. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.295>.
118. Shosha, E., Fouda, A. Y., Lemtalsi, T., Haigh, S., Fulton, D., Ibrahim, A., Al-Shabrawey, M., Caldwell, R. W., & Caldwell, R. B. (2021) 'Endothelial arginase 2 mediates retinal ischemia/reperfusion injury by inducing mitochondrial dysfunction', *Molecular Metabolism*, 53, p. 101273. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101273>.
119. Sinha, P., Clements, V. K., Fulton, A. M., & Ostrand-Rosenberg, S. (2007) 'Prostaglandin e2 promotes tumor progression by inducing myeloid-derived suppressor cells', *Cancer Research*, 67(9), pp. 4507–4513. Dostupno na: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-4174>.
120. Slotkin, T.A. & Bartolome, J. (1986) 'Role of ornithine decarboxylase and the polyamines in nervous system development: A review', *Brain Research Bulletin*, 17(3), pp. 307–320. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(86\)90236-4](https://doi.org/10.1016/0361-9230(86)90236-4).
121. Spector, E.B., Rice, S.C.H. & Cederbaum, S.D. (1983) 'Immunologic studies of arginase in tissues of normal human adult and arginase-deficient patients', *Pediatric Research*, 17(12), pp. 941–944. Dostupno na: <https://doi.org/10.1203/00006450-198312000-00003>.
122. Speiser, D.E., Ho, P.C. & Verdeil, G. (2016) 'Regulatory circuits of T cell function in cancer', *Nature Reviews Immunology*, 16(10), pp. 599–611. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/nri.2016.80>.
123. Stepan, J., Tran, H. T., Bead, V. R., Oh, Y. J., Sikka, G., Bivalacqua, T. J., Burnett, A. L., Berkowitz, D. E., & Santhanam, L. (2016) 'Arginase inhibition reverses endothelial dysfunction, pulmonary hypertension, and vascular stiffness in transgenic sickle cell mice', *Anesthesia & Analgesia*, 123(3), pp. 652–658. Dostupno na: <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000001378>.
124. Toda, N., Ayajiki, K. & Okamura, T. (2009) 'Cerebral blood flow regulation by nitric oxide: recent advances', *Pharmacological Reviews*, 61(1), pp. 62–97. Dostupno na: <https://doi.org/10.1124/pr.108.000547>.
125. Villalba, N., Sackheim, A. M., Nunez, I. A., Hill-Eubanks, D. C., Nelson, M. T., Wellman, G. C., & Freeman, K. (2017) 'Traumatic brain injury causes endothelial dysfunction in the systemic microcirculation through arginase-1-dependent uncoupling of endothelial nitric oxide synthase', *Journal of Neurotrauma*, 34(1), pp. 192–203. Dostupno na: <https://doi.org/10.1089/neu.2015.4340>.
126. Vodovotz, Y., Bogdan, C., Paik, J., Xie, Q. W., & Nathan, C. (1993) 'Mechanisms of suppression of macrophage nitric oxide release by transforming growth factor beta.', *The Journal of experimental medicine*, 178(2), pp. 605–613. Dostupno na: <https://doi.org/10.1084/jem.178.2.605>.
127. Wakabayashi, Y., Henslee, J.G. & Jones, M.E. (1983) 'Pyrroline-5-carboxylate synthesis from glutamate by rat intestinal mucosa. Subcellular localization and temperature stability.', *Journal of Biological Chemistry*, 258(6), pp. 3873–3882. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)32748-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)32748-0).
128. Wallace, H.M., Fraser, A.V. & Hughes, A. (2003) 'A perspective of polyamine metabolism', *Biochemical Journal*, 376(1), pp. 1–14. Dostupno na: <https://doi.org/10.1042/bj20031327>.
129. Williams, K. (1997) 'Interactions of polyamines with ion channels', *Biochemical Journal*, 325(2), pp. 289–297. Dostupno na: <https://doi.org/10.1042/bj3250289>.
130. World health organization (2023) <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension> (Pristupljeno 24.8.2024.)

131. Wright, R. K., Buehler, B. A., Schott, S. N., & Rennert, O. M. (1978) 'Spermine and spermidine, modulators of the cell surface enzyme adenylate cyclase', *Pediatric Research*, 12(8), pp. 830–833. Dostupno na: <https://doi.org/10.1203/00006450-197808000-00005>.
132. Wu, G. (1995) 'Urea synthesis in enterocytes of developing pigs', *Biochemical Journal*, 312(3), pp. 717–723. Dostupno na: <https://doi.org/10.1042/bj3120717>.
133. Wu, G., Davis, P. K., Flynn, N. E., Knabe, D. A., & Davidson, J. T. (1997) 'Endogenous synthesis of arginine plays an important role in maintaining arginine homeostasis in postweaning growing pigs', *The Journal of Nutrition*, 127(12), pp. 2342–2349. Available at: <https://doi.org/10.1093/jn/127.12.2342>.
134. Wu, G. & Morris, S.M. (1998) 'Arginine metabolism: nitric oxide and beyond', *Biochemical Journal*, 336(1), pp. 1–17. Dostupno na: <https://doi.org/10.1042/bj3360001>.
135. Xie, Q.W., Kashiwabara, Y. & Nathan, C. (1994) 'Role of transcription factor NF- κ B/Rel in induction of nitric oxide synthase', *Journal of Biological Chemistry*, 269(7), pp. 4705–4708. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)37600-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)37600-7).
136. Yang, M., Rangasamy, D., Matthaei, K. I., Frew, A. J., Zimmermann, N., Mahalingam, S., Webb, D. C., Tremethick, D. J., Thompson, P. J., Hogan, S. P., Rothenberg, M. E., Cowden, W. B., & Foster P. S. (2006) 'Inhibition of arginase i activity by RNA interference attenuates il-13-induced airways hyperresponsiveness', *The Journal of Immunology*, 177(8), pp. 5595–5603. Dostupno na: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.8.5595>.
137. You, H., Gao, T., Cooper, T. K., Morris, S. M., Jr, & Awad, A. S. (2015) 'Arginase inhibition: a new treatment for preventing progression of established diabetic nephropathy', *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 309(5), pp. F447–F455. Dostupno na: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00137.2015>.
138. Yu, H., Iyer, R. K., Kern, R. M., Rodriguez, W. I., Grody, W. W., & Cederbaum, S. D. (2001) 'Expression of arginase isozymes in mouse brain', *Journal of Neuroscience Research*, 66(3), pp. 406–422. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/jnr.1233>.
139. Zhang, W., Baban, B., Rojas, M., Tofigh, S., Virmani, S. K., Patel, C., Behzadian, M. A., Romero, M. J., Caldwell, R. W., & Caldwell, R. B. (2009) 'Arginase activity mediates retinal inflammation in endotoxin-induced uveitis', *The American Journal of Pathology*, 175(2), pp. 891–902. Dostupno na: <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.081115>.
140. Zhang, Y., Higgins, C. B., Tica, S., Adams, J. A., Sun, J., Kelly, S. C., Zong, X., Dietzen, D. J., Pietka, T., Ballentine, S. J., Shriver, L. P., Patti, G. J., Cao, Y., & DeBosch, B. J. (2024) 'Hierarchical tricarboxylic acid cycle regulation by hepatocyte arginase 2 links the urea cycle to oxidative metabolism.', *Cell metabolism* [Preprint]. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.07.007>.

9. Životopis

Rođena sam 19.03.2003. godine u Sinju gdje 2021. godine završavam srednjoškolsko obrazovanje u Gimnaziji Dinka Šimunovića u Sinju. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja sudjelovala sam na državnim natjecanjima iz geografije i francuskog jezika te na Svjetskoj geografskoj olimpijadi i Geo 2021 na kojoj sam osvojila brončanu medalju. Studij molekularne biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu upisujem 2021. godine. Aktivna sam članica Udruge studenata biologije BIUS od 2022. godine u kojem trenutno vodim Sekciju za biospeleologiju. U ljetnom semestru akademske godine 2023./2024. odradila sam laboratorijsku stručnu praksu u Laboratoriju za staničnu dinamiku Zavoda za molekularnu biologiju na Institutu Ruđer Bošković. Članica sam Speleološkog odsjeka PDS Velebit i Hrvatskog biospeleološkog društva.