

Received: 2011.08.11
Accepted: 2011.11.03
Published: 2011.11.23

Aktywność N-acetylo- β -D-heksozaminidazy i jej izoenzymów A i B w nowotworach

Activity of N-acetyl- β -hexosaminidase and its isoenzymes A and B in cancer

Barbara Choromańska¹, Magdalena Luto², Sławomir Dariusz Szajda³,
Napoleon Waszkiewicz⁴, Alina Kępką⁵, Jacek Janica⁶, Jerzy Robert Ładny³,
Jacek Dadan¹, Piotr Myśliwiec¹, Krzysztof Zwierz⁷

¹ I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej

² Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii

³ Zakład Medycyny Ratunkowej i Katastrof

⁴ Klinika Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

⁵ Zakład Biochemii i Medycyny Doświadczalnej, Instytut Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie

⁶ Zakład Radiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

⁷ Wyższa Szkoła Ochrony Zdrowia TWP w Łomży

Streszczenie

W 2008 roku odnotowano w Polsce 93,06 tysięcy zgonów z powodu nowotworów złośliwych, a prognozy umieralności wskazują na możliwy wzrost liczby zgonów w 2025 roku prawie do 105 tysięcy.

Wczesne wykrycie choroby nowotworowej sprawia problemy nie tylko w Polsce, lecz i na całym świecie, dlatego wielu badaczy poszukuje ciągle swoistych i czułych markerów dla wczesnego rozpoznania określonego nowotworu. Pewne nadzieje stwarza oznaczanie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych, w tym N-acelo- β -D-heksozaminidazy (HEX) i jej izoenzymów HEX A i HEX B.

HEX jest najaktywniejszą z egzoglikozydaz lizosomalnych, biorących udział w katabolizmie glikokoniuatów (glikoprotein, glikolipidów, proteoglikanów).

Aktywność HEX i jej izoenzymów HEX A i HEX B w analizowanych pracach była oznaczana metodami: spektrofotometryczną i izoelektroogniskowania. Stwierdzono istotny wzrost aktywności HEX w nowotworach nerek, trzustki, tarczycy, jelita grubego, jajnika, mózgu, ślinianek, żołądka i krtani. Celem pracy był przegląd aktualnego piśmiennictwa oraz omówienie badań własnych aktywności HEX w nowotworach złośliwych wraz z oceną ich potencjalnej przydatności w diagnostyce nowotworów.

Słowa kluczowe:

N-acetylo- β -D-heksozaminidaza • HEX A • HEX B • rak • jelito grube • trzustka • żołądek • nerka • jajnik • tarczycza • gruczoł ślinowy • krtani • mózg

Summary

There were approximately 93,060 deaths from cancers in Poland in 2008, and about 105,000 are predicted for the year 2025. Early detection of cancer is a major problem throughout the world,



which is why many researchers are still looking for specific and sensitive markers of malignant tumors.

Our work is a review of recent publications on activity of N-acetyl-β-D-hexosaminidase (HEX) and its isoenzymes A (HEX A) and B (HEX B) as potential markers of malignant tumors. HEX is the most active of the lysosomal exoglycosidases, taking part in degradation of glycoconjugates (glycoproteins, glycolipids, proteoglycans). HEX cleaves N-acetyl-D-glucosamine and N-acetyl-D-galactosamine from non-reducing ends of oligosaccharide chains of glycoproteins, glycolipids and glycosaminoglycans.

The activity of HEX, and its isoenzymes A (HEX A) and B (HEX B), was determined by spectrophotometric and isoelectric focusing methods. There was a statistically significant increase in activity of HEX in tumors of the kidney, pancreas, thyroid, colon, ovary, brain, salivary gland, stomach and larynx, which suggests potential applicability of HEX and its isoenzymes in cancer diagnosis.

Key words: N-acetyl-β-hexosaminidase • HEX A • HEX B • cancer • large intestine • pancreas • stomach • kidney • ovary • thyroid • salivary gland • larynx • brain

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=966833>

Word count: 2570

Tables: 1

Figures: –

References: 45

Adres autorki: mgr Barbara Choromańska, I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, ul. Marii Skłodowskiej Curie 24 A, 15-276 Białystok; e-mail: basia_27_86@o2.pl

WSTĘP

W 2008 roku odnotowano w Polsce około 93 tysięcy zgonów z powodu nowotworów złośliwych, co było drugą przyczyną zgonów (po chorobach układu krążenia), stanowiąc prawie 26% zgonów u mężczyzn i 23% u kobiet [42]. Prognozy umieralności na nowotwory złośliwe w Polsce są niekorzystne: wskazują na wzrost rocznej liczby zgonów w 2025 roku prawie do 105 tysięcy [10].

Pomimo wprowadzenia w ostatnich latach wielu nowych metod diagnostycznych, nowotwory w Polsce nadal są zbyt późno wykrywane. Stwierdza się często zaawansowane stadium choroby z naciekaniem pobliskich tkanek oraz przerzuty do innych narządów. Rozwój nowotworu może powodować zmianę aktywności i struktury wielu enzymów. Sugeruje się, że w diagnostyce nowotworów może być pomocne oznaczanie aktywności N-acetylo-β-D-heksozaminidazy (HEX) i jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B). HEX jest najaktywniejszym enzymem należącym do egzoglikozydaz lizosomalnych, biorących udział w degradacji glikokonjugatów (glikoproteiny, glikolipidy, proteoglikany) [43]. HEX odszczepia N-acetylo-D-glukozaaminę i N-acetylo-D-galaktozaaminę od nieredukującego końca łańcucha oligosacharydowego glikoprotein, glikolipidów i proteoglikanów [8,24,39]. HEX występuje w: surowicy krwi, moczu, płynie mózgowo-rdzeniowym i płynie stawowym [18,22,25,39] oraz w wielu tkankach i narządach ludzkich [24]. Wyróżniamy kilka postaci molekularnych HEX (izoenzymy: A, B, C, S, I1, I2, P), które można rozdzielić metodami chromatografii jonowymiennej i powinowactwa oraz elektroforezy, na różnych podłożach, np.: żelu poliakrylamidowym, octanie celulozy,

żelu skrobiowym [8,9]. HEX jest to glikoproteina o masie 150–160 kDa, zbudowana z dwóch łańcuchów polipeptydowych α i β. Łańcuchy polipeptydowe występują w trzech możliwych kombinacjach: izoenzym A-αβ, izoenzym B-ββ i izoenzym S-αα [7,44]. HEX A składa się z dwóch łańcuchów polipeptydowych alfa i dwóch beta [16]. HEX B natomiast składa się z czterech łańcuchów polipeptydowych β [14].

Ocena aktywności HEX stosowana jest w klinicznej diagnostyce zaburzeń genetycznych związanych z niedoborem lub zmniejszeniem aktywności izoenzymu A w chorobie Tay-Sachs i izoenzymu B w chorobie Sandhoffa [9,19,22,27].

Celem pracy był przegląd aktualnego piśmiennictwa i omówienie własnych wyników badań aktywności HEX w nowotworach złośliwych: nerki, trzustki, tarczycy, jelita grubego, jajnika, mózgu, gruczołu ślinowego, żołądka oraz krtani. Aktywność HEX, HEX A i HEX B była oznaczana w surowicy krwi, moczu, ślinie oraz tkankach nowotworowych metodami izoelektroogniskowania na płaskich żelach poliakrylamidowych i spektrofotometryczną na podstawie ilości uwolnionego p-nitrofenolu z pochodnych p-nitrofenolowych N-acetyloglukozoaminy.

RAK JELITA GRUBEGO

Rak jelita grubego należy do najczęściej rozpoznawanych nowotworów w krajach wysoko rozwiniętych. W 2008 roku w Polsce rak jelita grubego występował na drugiej lub trzeciej pozycji u obu płci stanowiąc u mężczyzn 10,9%, a u kobiet 11,6% zgonów na nowotwory złośliwe [42]. Dzięki endoskopii, testom na krew utajoną w kale,

Tabela 1. Zmiany w aktywności HEX i jej izoenzymów A i B u chorych w wybranych nowotworach w stosunku do osób zdrowych; * pKat/ml, ** pKat/mg białka, *** pKat/mg kreatyniny

Nowotwór	Surowica krwi	Mocz	Ślina	Tkanka
Rak jelita grubego [32,36]	↑HEX*, ↑HEX A*, ↑HEX B*	↑HEX*, ↑HEX A*, ↑HEX B*, ↑HEX***, ↑HEX A***, ↑HEX***, ↑HEX A***, ↑HEX B***		
Rak trzustki [34,35,37,38]	↑HEX*, ↑HEX A*, ↑HEX**, ↑HEX A**			
Rak żołądka [15]				↑HEX*
Rak nerki [2,4]	↑HEX*, ↑HEX A*, ↑HEX B*	↑HEX*, ↑HEX A*, ↑HEX B*		↑HEX**, ↑HEX A**
Rak jajnika [6]				↑HEX*
Rak tarczycy [45]	↑HEX A*, ↑HEX A**			
Rak gruczołu ślinowego [1,3]	↑HEX*, ↑HEX A*, ↑HEX B*		↑HEX*, ↑HEX A*	↑HEX*, ↑HEX A*, ↑HEX B*, ↑HEX**, ↑HEX A**, ↑HEX B**
Rak krtani [23]				↑HEX*
Glejak [41]				↑HEX**, ↑HEX A**, ↑HEX B**

testom immunochemicznym, badaniu stężenia CEA (antygen karcinoembrionalny) oraz innym badaniom laboratoryjnym [33], poprawia się wykrywalność raka jelita grubego. Nadal jednak brakuje prostych i tanich testów do badań przesiewowych w kierunku raka jelita grubego. W poszukiwaniu testów diagnostycznych nasz zespół podjął próbę wykorzystania oznaczania aktywności HEX, HEX A i HEX B w surowicy i moczu pacjentów z gruczolakorakiem jelita grubego oraz ze śluzotwórczym rakiem jelita grubego, jako potencjalnych markerów raka jelita grubego [32,33,36]. Stwierdziliśmy istotny wzrost stężenia aktywności HEX, HEX A i HEX B w surowicy krwi i moczu, aktywności swoistej HEX i jej izoenzymu HEX A oraz aktywności w przeliczeniu na kreatyninę, HEX, HEX A i HEX B w moczu (tab.1) [32,36].

Istotny wzrost stężenia aktywności HEX, HEX A i HEX B w surowicy krwi, HEX A w moczu i aktywności HEX, HEX A oraz HEX B w moczu w przeliczeniu na kreatyninę we wczesnej fazie rozwoju raka jelita grubego, w porównaniu do grupy kontrolnej, wskazuje na możliwość wykorzystania oznaczenia aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w rozpoznaniu raka jelita grubego we wczesnej fazie jego rozwoju [32].

W naszych badaniach [32,36] wykazaliśmy wysoką wartość diagnostyczną mikrometody do oznaczenia aktywności HEX, HEX B w surowicy krwi i moczu opracowanej przez nasz zespół. Badanie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu sugeruje możliwość wykorzystania w diagnostyce gruczolakoraka jelita grubego stężenia aktywności HEX, HEX A, HEX B oraz aktywności HEX, HEX A, HEX B w przeliczeniu na kreatyninę. Oznaczenie aktywności swoistych HEX i HEX A w moczu może mieć istotne zastosowanie we wczesnej diagnostyce raka jelita grubego [36]. U osób ze śluzotwórczym rakiem jelita grubego obserwowaliśmy istotny wzrost aktywności HEX w surowicy

krwi w porównaniu do grypy kontrolnej. W moczu stwierdziliśmy istotny wzrost aktywności HEX i HEX B, wyrażonej jako pKat/mg kreatyniny [32]. Stężenia aktywności HEX, HEX B i aktywności w przeliczeniu na kreatyninę HEX, HEX A i HEX B były istotnie wyższe w moczu chorych z gruczolakorakiem w porównaniu do moczu chorych na gruczolakoraka śluzowego jelita grubego [32].

RAK TRZUSTKI

Na raka trzustki w 2008 roku w Polsce umarło z porównywalną częstością 5,6% kobiet i 4,3% mężczyzn [42]. Diagnostyka raka trzustki opiera się głównie na metodach obrazowych (USG i tomografia komputerowa) oraz markerach białkowych: CA 19-9 – nowotworowy antygen przewodu pokarmowego, CEA – antygen rakowo-płodowy i CA 50 – węglowodanowy antygen nowotworowy [37]. Pomimo tak wielu wskaźników raka trzustki poszukiwane są nowe bardziej swoiste i czułe markery, które pozwoliłyby na wykrycie nowotworu we wczesnym etapie jego rozwoju.

W badaniu własnym, metodą spektrofotometryczną [34,35,38] stwierdziliśmy istotny wzrost stężenia aktywności (pKat/ml) HEX i aktywności swoistej (pKat/mg białka) HEX w surowicy krwi oraz tendencję do wzrostu aktywności swoistej HEX w moczu chorych z gruczolakorakiem trzustki w porównaniu do osób zdrowych. Wyniki naszych badań [37] wskazują na istotny wzrost stężenia aktywności i aktywności swoistej HEX A przy braku istotnego wzrostu aktywności HEX B w surowicy krwi chorych z gruczolakorakiem trzustki w porównaniu do osób zdrowych. Badając moczu chorych z gruczolakorakiem trzustki stwierdziliśmy brak istotnego wzrostu aktywności HEX B w porównaniu do moczu osób zdrowych [37]. Prowadzone przez nasz zespół badania wskazują na istotną wartość diagnostyczną oznaczenia aktywności HEX w surowicy krwi i moczu chorych z gruczolakorakiem trzustki [35]. Wykazaliśmy



wysoką czułość i swoistość diagnostyczną oznaczenia stężenia aktywności HEX w surowicy krwi i moczu chorych z gruczolakorakiem trzustki [37].

RAK ŻOŁĄDKA

W 2008 roku w Polsce rak żołądka był przyczyną 7% zgonów u mężczyzn i 5% u kobiet [42]. Badania aktywności HEX w gruczolakoraku żołądka, w porównaniu do zdrowej błony śluzowej żołądka, podjęli Gill-Martin i wsp. [15]. Wykazali oni istotnie wyższą aktywność HEX w tkance nowotworowej w porównaniu do aktywności w tkance zdrowej [15].

RAK NERKI

Rak nerki w 2008 roku w Polsce spowodował 3% zgonów u mężczyzn i 2,2% u kobiet. Rak nerki występuje częściej u mężczyzn niż u kobiet [42]. W diagnostyce nowotworów nerek wykorzystuje się badania obrazowe jamy brzusznej (ultrasonografię, tomografię komputerową, magnetyczny rezonans jądrowy) oraz scyntygrafię. W nerce najczęściej diagnozowany jest rak jasnokomórkowy (renal cell carcinoma – RCC) [42]. RCC pochodzi z nabłonkowych komórek cewek krętych, które charakteryzują się dużą aktywnością HEX, HEX A i HEX B [2,4]. Za pomocą wirowania różnicowego kłębuszków i kanalików nerkowych wykazano, że aktywność HEX w kłębuszkach jest ponad trzykrotnie niższa, niż w kanalikach. W korze i rdzeniu nerki występują oba izoenzymy HEX, z przewagą izoenzymu A [17,21,26]. Borzym-Kluczyk i wsp. [4] wykazali metodami spektrofotometryczną i izoelektroogniskowania, że w tkance nerkowej zdrowej i nowotworowej, większą aktywność swoistą wykazuje HEX A, w porównaniu do HEX B [4]. Borzym-Kluczyk i wsp. [2] oznaczyli również aktywność HEX, HEX A i HEX B w surowicy krwi i moczu pacjentów z RCC. Oznaczyliśmy również aktywność HEX, HEX A i HEX B w surowicy krwi i moczu pacjentów z RCC [2]. Zaobserwowaliśmy istotny wzrost aktywności HEX, HEX A i HEX B w surowicy krwi i moczu chorych z RCC w porównaniu do osób zdrowych [2]. Wykazaliśmy także istotny wzrost aktywności HEX, HEX A i HEX B w surowicy krwi i moczu chorych z RCC w porównaniu do osób zdrowych [2]. Kontynuując badanie aktywności izoenzymów HEX A i HEX B za pomocą metod kolorymetrycznych i izoelektroogniskowania wykazaliśmy zbliżoną wartość diagnostyczną obu metod.

Borzym-Kluczyk i wsp. [5] wykazali także istotny wzrost aktywności HEX w surowicy krwi i moczu chorych z rakiem nerki palących i niepalących papierosy w porównaniu do osób zdrowych oraz istotnie większą aktywność HEX u chorych niepalących papierosy w porównaniu do palących [5]. Kontynuując badanie aktywności izoenzymów HEX A i HEX B za pomocą metod kolorymetrycznej i izoelektroogniskowania Borzym-Kluczyk i wsp. [4] wykazali zbliżoną wartość diagnostyczną metody kolorymetrycznej i elektroogniskowania. Metoda kolorymetryczna jest metodą prostszą, łatwiejszą w wykonaniu i tańszą, a tym samym wygodniejszą do zastosowania przy dużej liczbie próbek.

RAK JAJNIKA

Rak jajnika jest u kobiet pierwszą przyczyną śmiertelności z powodu nowotworów narządów rodnych [31], która

w 2008 roku spowodowała 6,1% zgonów u kobiet w Polsce [42]. Zachorowalność na raka jajnika wzrasta w piątej dekadzie życia, a ryzyko zależy od wielu czynników, np.: liczby i częstości owulacji u kobiety, przebytych ciąż, hiperestrogenizmu, hiperandrogenizmu, otyłości, niepłodności, endometriozy, zespołu Lynch II itd. [13]. Badania ginekologiczne i USG pozwalają na wykrycie raka jajnika zwykle dopiero w późnym etapie jego rozwoju. Na stosunkowo wczesne wykrycie tego nowotworu pozwala badanie PET (pozytonowa tomografia emisyjna) oraz podwyższone we krwi stężenie markerów nowotworowych: CA 19-9 oraz CA-125. Chatterjee i wsp. [6] porównywali stężenia i profile izoenzymowe β-heksozoaminidazy w zdrowym jajniku i w nabłonkowym guzie jajnika metodą kolorymetryczną oraz chromatografii, z użyciem DEAE-celulozy. Aktywność swoista HEX była istotnie wyższa w tkance nowotworowej, niż w zdrowym jajniku i zależała od stopnia zróżnicowania komórek nowotworowych. Wysoko zróżnicowane guzy nowotworowe miały aktywność w zakresie porównywalnym do tkanek zdrowych, podczas gdy słabo zróżnicowane miały istotnie większą aktywność HEX niż tkanki zdrowe [6].

RAK TARCZYCY

Rak tarczycy jest najczęstszym nowotworem złośliwym układu dokrewnego ze stałą tendencją wzrostową. W 2008 roku w Polsce rozpoznawano go częściej u kobiet (0,52%) w porównaniu do mężczyzn (0,15%) [42]. Zwiększona zachorowalność na raka tarczycy związana jest ze szkodliwym działaniem promieni jonizujących i niedoborem lub nadmiarem jodu. Do czynników zwiększonego ryzyka powstawania nowotworu tarczycy należą: podeszły wiek, płeć żeńska oraz nadmierne pobudzanie tarczycy przez TSH [28,29]. Badania Zwierza i wsp. [45] wskazują na istotny wzrost stężenia i aktywności swoistej HEX A oraz tendencję do wzrostu całkowitej aktywności HEX, z jednoczesnym brakiem wzrostu stężenia aktywności HEX B, a nawet obniżenie aktywności swoistej HEX B w surowicy krwi u osób z rakiem tarczycy, w porównaniu do stężenia aktywności i aktywności swoistej HEX i jej izoenzymów A i B w surowicy krwi zdrowych mężczyzn [45]. Istotny wzrost stężenia aktywności i aktywności swoistej HEX A wskazuje na zwiększony katabolizm kwaśnych glikokoniuatów (glikozaminoglikanów oraz glikoprotein i glikolipidów zawierających kwas sialowy), mimo stanu wyrównania, a tym samym na nadal toczący się proces chorobowy. Brak istotnych różnic w aktywności HEX i HEX B w surowicy krwi chorych z rakiem tarczycy w porównaniu do osób zdrowych, sugeruje możliwość zastosowania oznaczenia aktywności HEX i HEX B w diagnostyce eutyreozy [45].

NOWOTWORY GRUCZOŁU ŚLINOWEGO

W 2008 roku w Polsce odnotowano 0,14% zgonów zarówno u mężczyzn jak i u kobiet z powodu nowotworu ślinianki przyusznej [42]. Gruczolak wielopostaciowy ślinianki przyusznej jest łagodnym guzem gruczołu ślinowego z tendencją do złośliwienia. Diagnostyka nowotworów ślinianek opiera się głównie na ultrasonografii i biopsji cienkoigłowej. Borzym-Kluczyk i wsp. [3] przeprowadzili badania aktywności HEX A i HEX B w zdrowej tkance oraz gruczolaku wielopostaciowym gruczołu ślinowego. Do oznaczeń wykorzystali metody: kolorymetryczną

i izoelektroogniskowanie. Całkowita aktywność HEX, HEX A i HEX B oznaczana spektrofotometrycznie była istotnie wyższa w gruczolaku wielopostaciowym w porównaniu do tkanek zdrowych gruczołu ślinowego. Autorzy izoelektroogniskowaniem wykazali obecność obu izoenzymów HEX (HEX A i HEX B) w zdrowych i nowotworowych tkankach gruczołu ślinowego. Stwierdzili oni istotny wzrost aktywności HEX A i HEX B w gruczolaku wielopostaciowym, w porównaniu do tkanek zdrowych gruczołu ślinowego [3]. Bierć i wsp. [1] podjęli kolejne badania egzoglikozydaz u pacjentów z łagodnymi i złośliwymi guzami gruczołów ślinowych. Przeprowadzili je na fragmentach tkanek, surowicy krwi oraz ślinie, pobranych od 42 chorych z łagodnymi i złośliwymi guzami gruczołów ślinowych. Wykazali istotny wzrost aktywności HEX i jej izoenzymów A i B w surowicy krwi oraz tkankach osób z guzem gruczołu ślinowego, w porównaniu do osób zdrowych. Istotny wzrost aktywności HEX, HEX A oraz tendencję do wzrostu HEX B były stwierdzane w ślinie osób z guzem gruczołu ślinowego, w odniesieniu do osób zdrowych [1].

RAK KRTANI

W Polsce w 2008 roku z powodu nowotworów krtani zmarło 2,7% mężczyzn i 0,45% kobiet [42]. Zachorowalność na raka krtani wzrasta po 45 roku życia, częściej u mężczyzn. W diagnostyce raka krtani wykorzystywana jest laryngoskopia, tomografia komputerowa oraz magnetyczny rezonans jądrowy. Pierwsze badania aktywności HEX w nowotworze krtani przeprowadzili Olszewska i wsp. [23]. Zaobserwowali oni istotny wzrost aktywności HEX w raku krtani, w porównaniu z tkankami zdrowymi krtani [23]. Uzyskane wyniki zachęcają do dalszych badań aktywności HEX, a także HEX A i HEX B w tym nowotworze.

GUZY MÓZGU

W Polsce w 2008 roku guzy mózgu były przyczyną 2,7% zgonów u mężczyzn i 3,3% u kobiet [42]. Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego sprawiają wiele problemów zdrowotnych na całym świecie, ponieważ leczenie zarówno chirurgiczne, jak i farmakologiczne, nie jest wystarczające. Diagnostyka nowotworów ośrodkowego układu nerwowego głównie opiera się na lekarskim wywiadzie oraz badaniach neurologicznych. Do diagnostyki guzów mózgu wykorzystywane są: rezonans magnetyczny, tomografia komputerowa, angiografia, PET.

Jednym z wielu badań przeprowadzonych na guzach mózgu była ocena roli egzoglikozydaz w katabolizmie glikokoniugatów wykonana przez Wielgata i wsp. [41]. W badaniach porównywano aktywność HEX, HEX A i HEX B, w różnych guzach mózgu. Stwierdzono istotnie większą aktywność swoistą HEX w guzach mózgu, w porównaniu z prawidłowymi tkankami. Najwyższą aktywność swoistą HEX i HEX B badacze zaobserwowali w guzach przerzutowych. Była ona sześciokrotnie wyższa, niż w zdrowej tkance mózgowej. Aktywność HEX A była istotnie większa w gwiaździaکی anaplastycznym, w porównaniu do innych guzów

mózgu. Glejak wielopostaciowy odznaczał się najwyższą aktywnością HEX spośród guzów glejowych. Z przeprowadzonych badań wynika, że aktywność HEX rośnie wraz ze stopniem złośliwości nowotworu [41]. Takie stwierdzenie sugeruje możliwość wykorzystania oznaczenia aktywności HEX i jej izoenzymów HEX A i HEX B jako badania uzupełniającego ocenę histopatologiczną guza mózgu.

PODSUMOWANIE

Nowotwory w Polsce stanowią drugą przyczynę umieralności, po chorobach układu krążenia [42]. Tak duża umieralność z powodu nowotworów może wynikać ze zbyt późnego ich wykrywania. Ze względu na to, że dotychczasowe metody leczenia nowotworów złośliwych często są niewystarczające, stąd też ciągle poszukiwane są bardziej czułe i swoiste markery nowotworowe, które umożliwiłyby rozpoznanie nowotworu we wczesnym stadium. Jak wynika z przeglądu piśmiennictwa oraz badań własnych N-acetylo-β-D-heksozoaminidaza (HEX) może być czułym, choć nieswoistym wskaźnikiem rozwoju nowotworu, ponieważ aktywność HEX wzrasta również w przypadku innych chorób. W autoimmunologicznym zapaleniu wątroby, zapaleniu trzustki, boreliozowym przewlekłym zapaleniu stawów; w moczu: w wodonerczu, nefropatii cukrzycowej; w ślinie: w cukrzycy typu I [7,11,12,20,30,40]. Wydaje się, że dopiero oznaczenie aktywności enzymatycznej HEX i jej izoenzymów A i B wraz z aktywnością innych egzoglikozydaz lizosomalnych: β-galaktozydazy (GAL), α-fukozydazy (FUC) i α-mannozydazy (MAN) [33,34,37,38,45] z rutynowo oznaczanymi markerami np. raka jelita grubego czy trzustki [33,34,37,38,45] może poprawić efektywność rutynowej diagnostyki onkologicznej nowotworów złośliwych. Z naszych badań wynika, że w surowicy krwi chorych z rakiem tarczycy istotnie wzrasta tylko HEX A [45]; HEX, HEX A i HEX B istotnie wzrasta w raku nerki [4,5], natomiast w raku trzustki istotnie wzrasta HEX i HEX A [34]. Wyniki naszych badań wskazują na istotną wartość diagnostyczną oceny aktywności HEX, HEX A i HEX B w surowicy krwi oraz HEX, HEX A i HEX B w moczu chorych na raka jelita grubego w przeliczeniu na kreatyninę w moczu. Wzrost aktywności HEX w porównaniu do tkanek zdrowych zaobserwowano w tkankach nabłonkowego guza jajnika [6], gwiaździaکی anaplastycznego [41], glejaka wielopostaciowego [41], nowotworów gruczołu ślinowego [1,3], gruczolakoraka żołądka [15] oraz raku krtani [23]. Przedstawione wyniki zachęcają do dalszych badań nad degradacją glikokoniugatów w tkankach zmienionych nowotworowo, aktywnością HEX, HEX A i HEX B w płynach biologicznych i prób zastosowania tego enzymu w badaniach przesiewowych w kierunku nowotworów złośliwych oraz wykorzystaniu w monitorowaniu leczenia nowotworów złośliwych. Argumentami przemawiającymi za możliwością wykorzystania HEX w diagnostyce przesiewowej nowotworów są prostota i niski koszt oznaczenia aktywności HEX metodą spektrofotometryczną, a co najważniejsze, wykorzystanie surowicy krwi, moczu lub śliny jako materiału łatwo dostępnego, często możliwego do pobrania w sposób nieinwazyjny.



PIŚMIENNICTWO

- [1] Bierć M., Minarowski Ł., Woźniak Ł., Chojnowska S., Knaś M., Szajda S., Zwierz K.: The activity selected glycosidases in salivary gland tumors. *Fol. Histochem. Cytobiol.*, 2010; 48: 471–474
- [2] Borzym-Kluczyk M., Darewicz B., Knaś M., Szajda S.D., Sulik M., Olszewska E., Zwierz K.: The activity of N-acetyl-β-glucosaminidase and its isoenzymes in the renal tissue, serum and urine of patient with renal cancer. *Współ. Onkol.*, 2005; 9: 287–290
- [3] Borzym-Kluczyk M., Olszewska E., Radziejewska I., Lewszuk A., Zwierz K.: Isoenzymes of N-acetyl-β-hexosaminidase in human adenoma and healthy salivary glands: a preliminary study. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2008; 46: 131–136
- [4] Borzym-Kluczyk M., Olszewska E., Szajda S. D., Knaś M., Darewicz B., Zwierz K.: Aktywność izoenzymów A i B N-acetylo-β-heksozaminidazy w tkance raka nerki. *Współ. Onkol.*, 2006; 10: 502–505
- [5] Borzym-Kluczyk M., Radziejewska I., Zaniewska A., Borzym-Lewszuk A., Szajda S.D., Knaś M., Zwierz K., Darewicz B.: Effect of smoking on activity of N-acetyl-β-hexosaminidase in serum and urine of renal cancer patients. *Clin. Biochem.*, 2009; 42: 1565–1567
- [6] Chatterjee S.K., Chowdhury K., Bhattacharya M., Barlow J.J.: Beta-hexosaminidase activities and isoenzymes in normal human ovary and ovarian adenocarcinoma. *Cancer*, 1982; 49: 128–135
- [7] Chmurek M., Milnerowicz H., Milnerowicz S., Nabzdyk S.: Stężenie interleukiny 6 oraz aktywność enzymów lizosomalnych: N-acetyl-β-D-glukozaminidazy i β-glukuronidazy w surowicy chorych na zapalenie trzustki. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2004; 13: 961–967
- [8] Czartoryska B.: Glikozydazy lizosomalne w katabolizmie glikoheteropolimerów. *Postępy Biochem.*, 1977; 23: 229–266
- [9] De Gasperi R., Gama Sosa M.A., Grebner E.E., Mansfield D., Battistini S., Sartorato E.L., Raghavan S.S., Davis J.G., Kolodny E.H.: Substitution of alanine⁴⁸³ with threonine at the carboxy terminal end of the β-chain is associated with thermolabile hexosaminidase B in a Jewish family of oriental ancestry. *Biochem. Mol. Med.*, 1995; 56: 31–36
- [10] Didkowska J., Wojciechowska U., Zatoński W.: Prognozy zachorowań i umieralności na nowotwory złośliwe w Polsce do 2025 roku. Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa, 2009
- [11] Dutkiewicz E., Knaś M., Stypułkowska A., Ferens-Sieczkowska M., Borzym-Kluczyk M., Szajda S., Zwierz K.: Activity of N-acetyl-beta-hexosaminidase and its isoenzymes in serum of patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis. *EC Hepatol.*, 2006; 2: 13–17
- [12] Ebisawa T., Uechi M., Hori Y., Yamano S.: Short term change of urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase in reduced kidney mass with renal artery ligation. *J. Vet. Med. Sci.*, 2006; 68: 1355–1357
- [13] Edmondson R.J., Monaghan J.M.: The epidemiology of ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer*, 2001; 11: 423–429
- [14] Geiger B., Arnon R.: Chemical characterization and subunit structure of human N-acetylhexosaminidases A and B. *Biochemistry*, 1976; 15: 3484–3493
- [15] Gil-Martin E., Gil-Sejjo S., Nieto-Novoa C., Fernandez-Briera A.: Elevation of acid glycosidase activities in thyroid and gastric tumors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1996; 28: 651–657
- [16] Hanock L.W., Horwitz A.L., Cashman N.R., Antel J.A., Dawson G.: N-acetyl-β-hexosaminidase B deficiency in cultured fibroblast from a patient with progressive motor neuron disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1985; 130: 1185–1192
- [17] Hauser A.C., Fabrizi V., Derfler K., Balcke P.: Beta-N-acetylglucosaminidase (beta-NAG) as a parameter in the diagnosis and evaluation of primary glomerular and tubulointerstitial kidney diseases. *Wien. Klin. Wochenschr., Suppl.* 1991; 189: 13–16
- [18] Ikonne J.U., Ellis R.B.: N-acetyl-β-D-hexosaminidase component A. Different forms in human tissues and fluids. *Biochem. J.*, 1973; 135: 457–462
- [19] Kaback M.M.: Hexosaminidase A deficiency. W: GeneReviews, red: Pagon R.A., Bird T.D., Dolan C.R., Stephens K., Seattle 2006. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1218/> (24.10.2011)
- [20] Knaś M., Kraszewska K., Szajda S.D., Zarzycki W., Dudzik D., Zwierz K.: Saliva of patients with type I diabetes: effect of smoking on activity of lysosomal exoglycosidases. *Oral Dis.*, 2006; 12: 278–282
- [21] Morita A., Numata Y., Kosugi Y., Noto A., Takeuchi N., Uchida K.: Stabilities of N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) isoenzymes in urine: advantage of NAG isoenzyme B measurement in clinical applications. *Clin. Chim. Acta*, 1998; 278: 35–43
- [22] O'Brien J.S., Okada S., Chen A., Fillerup D.L.: Tay-Sachs disease: detection by serum hexosaminidase assay. *N. Engl. J. Med.*, 1970; 283: 15–21
- [23] Olszewska E., Borzym-Kluczyk M., Rzewnicki I., Rutkowska J., Knaś M., Rogowski M., Waniewska E., Wielgosz R.: Hexosaminidase as a new potential marker for larynx cancer. *Clin. Biochem.*, 2009; 42: 1187–1189
- [24] Ostrowska L., Zwierz K., Koniusz Z., Gindzieński A.: Rola, właściwości i znaczenie kliniczne N-acetylo-β-D-heksozaminidazy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 1993; 47: 67–79
- [25] Pott G., Chi-Boesler D., Gerlach U.: Isoenzymes of N-acetyl-β-glucosaminidase from human liver and serum: separation by electrofocusing in thin layers of polyacrylamide gel. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1978; 16: 15–18
- [26] Rustom R., Costigan M., Shenkin A., Bone J.M.: Proteinuria and renal tubular damage: urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase and isoenzymes in dissimilar renal disease. *Am. J. Nephrol.*, 1998; 18: 179–185
- [27] Sakpichaisakul K., Taeranawich P., Nitiapinyasakul A., Sirisopikun T.: Identification of Sandhoff disease in a Thai family: clinical and biochemical characterization. *J. Med. Assoc. Thai.*, 2010; 93: 1088–1092
- [28] Samuel A.M., Mehta M.N., Desai K.B.: Thyroid hormones in differentiated thyroid cancer. *Clin. Nucl. Med.*, 1994; 19: 49–53
- [29] Sherman S.I.: Thyroid carcinoma. *The Lancet*, 2003; 361: 501–511
- [30] Skelova S., Rejtar P., Kutilek S.: Increased urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in children with hydronephrosis. *Int. Braz. J. Urol.*, 2007; 33: 80–86
- [31] Synowiec A., Wcisło G., Bodner L., Wcisło-Szarlej K., Cieślak A., Sieluzicka J., Szczylik C.: Status genu BRCA 1 a zachorowanie na dziedziczną postać raka jajnika. *Współ. Onkol.*, 2010; 14: 72–78
- [32] Szajda S.D., Borzym-Kluczyk M., Snarska J., Puchalski Z., Zwierz K.: N-acetyl-beta-D-hexosaminidase and its isoenzymes A and B in blood serum and urine, as a potential colon cancer markers. *Hepatogastroenterology*, 2009; 56: 1287–1298
- [33] Szajda S.D., Jankowska A., Zwierz K.: Carbohydrate markers in colon carcinoma. *Dis. Markers*, 2008; 25: 233–242
- [34] Szajda S.D., Snarska J., Jankowska A., Puchalski Z., Zwierz K.: Isoenzymes A and B of N-acetyl-β-D-hexosaminidase in serum and urine of patients with pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology*, 2008; 55: 695–698
- [35] Szajda S.D., Snarska J., Kamiński F., Siedlecka K., Waszkiewicz N., Knaś M., Zwierz K.: Aktywność N-acetylo-β-D-heksozaminidazy w surowicy krwi i moczu chorych na raka trzustki. *Współ. Onkol.*, 2006; 10: 92–95
- [36] Szajda S.D., Snarska J., Puchalski Z., Zwierz K.: Lysosomal exoglycosidases in serum and urine of patients with colon adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology*, 2008; 55: 921–925
- [37] Szajda S.D., Waszkiewicz N., Chojnowska S., Zwierz K.: Carbohydrate markers of pancreatic cancer. *Biochem. Soc. Trans.*, 2011; 39: 340–343
- [38] Szajda S.D., Waszkiewicz N., Stypułkowska A., Dadan J., Zwierz K.: Lysosomal exoglycosidases in serum and urine of patients with pancreatic adenocarcinoma. *Fol. Histochem. Cytobiol.*, 2010; 48: 351–357
- [39] Tucker S.M., Boyd P.J., Thompson A.E., Price R.G.: Automated assay of N-acetyl-β-glucosaminidase in normal and pathological human urine. *Clin. Chim. Acta*, 1975; 62: 333–339
- [40] Wielgat P., Pancewicz S., Hermanowska-Szapakowicz T., Kondrusik M., Zajkowska J., Grygorczuk S., Popko J., Zwierz K.: Aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w surowicy pacjentów z boreliozowym przewlekłym zapaleniem stawów. *Przegl. Epidemiol.*, 2004; 58: 451–458
- [41] Wielgat P., Walczuk U., Szajda S., Bień M., Zimnoch L., Mariak Z., Zwierz K.: Activity of lysosomal exoglycosidases in human gliomas. *J. Neurooncol.*, 2006; 80: 243–249
- [42] Wojciechowska U., Didkowska J., Zatoński W.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2008 roku. Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa, 2010
- [43] Zwierz K., Gindzieński A., Ostrowska L., Stankiewicz-Choroszuca B.: Metabolism of glycoconjugates in human gastric mucosa. A review. *Acta Med. Hung.*, 1989; 46: 275–288

[44] Zwierz K., Juskiewicz J., Arciuch L., Gindzieński A.: N-acetylo- β -D-heksozoaminidaza – enzym chorób Tay-Sachsa i Sandhoffa. Postępy Biochem., 1992; 38: 127–132

[45] Zwierz P., Szajda S.D., Snarska J., Supranowicz Z.B., Zawadzki P., Zwierz K., Kamiński F.: Stężenie hormonu tyreotropowego oraz aktywność N-acetylo- β -D-heksozoaminidazy i jej izoenzymów A i B w surowicy chorych na raka tarczycy. Pol. Merk. Lek., 2006; 125: 439–442

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

