

β -heksozaminidaza w diagnostyce chorób wątroby

β -hexosaminidase in liver diseases

Sławomir Dariusz Szajda¹, Alina Kępka², Napoleon Waszkiewicz³,
Jadwiga Snarska⁴, Beata Zalewska-Szajda⁵, Magdalena Waszkiewicz⁶,
Małgorzata Borzym-Kluczyk¹, Anna Jankowska⁷, Joanna Jakimowicz-Rudy¹,
Sylwia Chojnowska⁸, Danuta Dudzik¹, Jacek Dobryniewski⁹,
Małgorzata Knaś¹, Ewa Dutkiewicz¹⁰, Anna Stypułkowska¹,
Katarzyna Raczkowska^{1,4}, Agnieszka Zaniewska¹, Justyna Marciniak¹,
Marta Bruczek¹, Maciej Sadowski¹¹, Krzysztof Zwierz¹

¹ Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Białystok

² Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

³ Klinika Psychiatrii, Białystok

⁴ I Klinika Chirurgii Ogólnej i Endokrynologicznej, Białystok

⁵ Zakład Diagnostyki Obrazowej, SPDSK w Białymstoku

⁶ Wojewódzki Szpital im J. Śniadeckiego w Białymstoku

⁷ Zakład Stomatologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

⁸ Instytut Medyczny Państwowej Wyższej Szkoły Informatyki i Przemysłowości w Łomży

⁹ Samodzielny Publiczny Psychiatryczny ZOZ w Choroszczu

¹⁰ Akademia Świętokrzyska w Kielcach, Instytut Kształcenia Medycznego, Wojewódzki Szpital Zespolony, Oddział Obserwacyjno-Zakaźny w Kielcach

¹¹ Oddział Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie

Summary: Activity of N-acetyl- β -hexosaminidase (HEX) in serum and urine may be a marker of liver disease. HEX is the lysosomal exoglycosidase which releases N-acetylglucosamine and N-acetylgalactosamine from non-reducing ends of oligosaccharide chains of glycoproteins, glycolipids and proteoglycans. Isoenzymes HEX A and HEX B have different structure, sensitivity for heating and neuraminidase treatment, as well as mobility in electric field. Activity of HEX and its isoenzymes in serum may be a marker for detection and monitoring of autoimmune hepatitis, autoimmune hepatitis with accompanying cholestasis and primary biliary cirrhosis. Activation of hepatocytes increases activity of HEX, transaminases and concentration of cholestasis indicators in serum, but activation of the Kupfer cells increases activity of lysosomal enzymes, mainly HEX. Acute and chronic damage to hepatocytes by alcohol and its metabolites increases HEX activity in serum and urine.

Słowa kluczowe: N-acetylo- β -heksozaminidaza (HEX) • autoimmunologiczne zapalenie wątroby (AZW) • autoimmunologiczne zapalenie wątroby z cholestazą (CholAZW) • przewlekła żółciowa marskość wątroby (PŻMW) • choroba alkoholowa

Key words: N-acetyl- β -hexosaminidase (HEX) • autoimmune hepatitis • autoimmune hepatitis with cholestasis • primary biliary cirrhosis • alcoholic disease

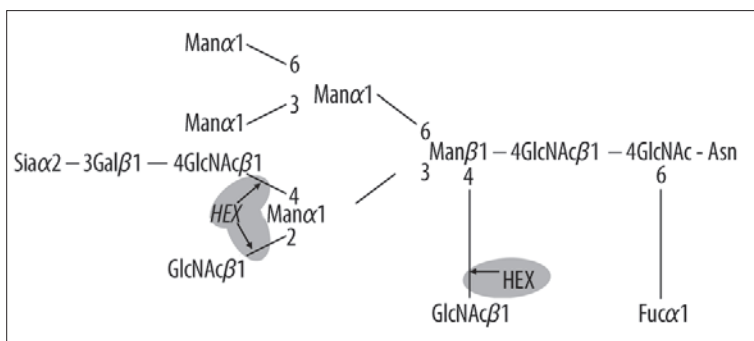
Adres do korespondencji: Sławomir D. Szajda, Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2, 15-230 Białystok, Polska, e-mail: spoak@umwb.edu.pl

Wstęp

Głównym zadaniem wątroby jest wstępna obróbka pokarmów wchłoniętych w przewodzie pokarmowym oraz wydzielanie żółci. Wątroba jest również „fabryką” przerabiającą i produ-

kującą lub wydzielającą: glukozę i glikogen, cholesterol, kwasy tłuszczowe i fosfolipidy, białka regulacyjne, białka osocza oraz niektóre aminokwasy i mocznik [1]. W wątrobie ulegają przemianie toksyny egzogenne i endogenne [2]. Wątroba magazynuje duże ilości krwi, która w razie potrzeby np. krwoto-





Rycina 1. N-wiązany oligosacharyd (według Kobaty) [79], miejsce działania HEX.

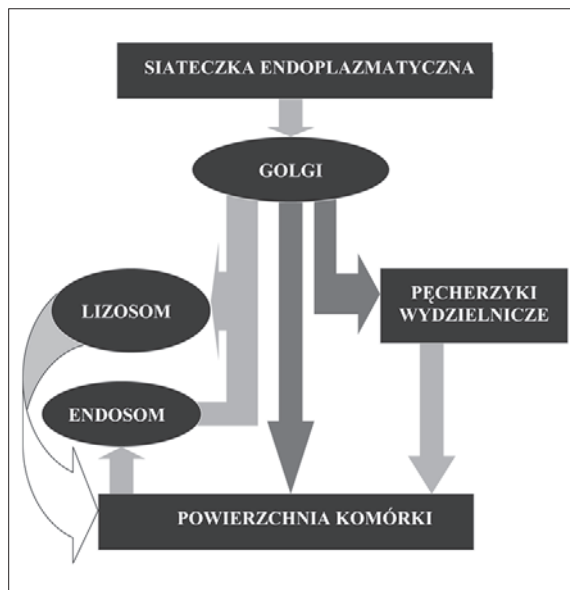
ku może być uwolniona do krwiobiegu [1]. Podstawowymi markerami uszkodzenia wątroby są enzymy biorące udział w metabolizmie wątroby i substancje przetwarzane przez wątrobę: aminotransferaza asparaginianowa – GOT, AspAT (E.C. 2.6.1.1.) [3], aminotransferaza alaninowa – GPT, ALAT, ALAT (E.C. 2.6.1.2) [4], gamma-glutamylotransferaza – GGTP, GGT, gamma-GT, γ -GT (E.C. 2.3.2.2) [5], fosfataza alkaliczna – AP (E.C. 3.1.3.1) [5]. Wątrobowymi markerami w pierwotnym raku wątroby wywodzącym się z hepatocytów są: α -fetoproteina – AFP czy des- γ -karboksyprotrombina, a we wtórnym (przerzutowym) raku wątroby: antygen karcinoembrionalny – CEA i CA 19.9 – antygen towarzyszący nowotworom przewodu pokarmowego [6–10]. Markery enzymatyczne i nowotworowe nie dość dokładnie charakteryzują proces chorobowy toczący się w wątrobie i nie są wystarczające dla właściwego doboru metody leczenia, prognozowania skuteczności leczenia i monitorowania efektywności terapii. Wobec tego należy poszukiwać dodatkowych wskaźników stanu metabolicznego wątroby. Jednym z takich wskaźników może być aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych [11].

Celem naszej pracy jest omówienie znaczenia najaktywniejszej z egzoglikozydaz, tj. N-acetylo- β -D-heksozaminidazy (HEX) i jej izoenzymów A i B, jako potencjalnych markerów chorób wątroby.

N-acetylo- β -heksozaminidaza - budowa i właściwości

N-acetylo- β -heksozaminidaza HEX (EC 3.2.1.52) jest kwasną egzoglikozydazą lizosomalną odcinającą reszty N-acetyloglukozoaminy (GlcNAc) (Rycina 1) lub N-acetylogalaktozoaminy (GalNAc) z nieredukującego końca łańcuchów oligosacharydowych glikolipidów, glikoprotein i proteoglikanów [12,13]. HEX występuje w tkance nerkowej [14] w wątrobie [15,16], błonie śluzowej żołądka [17], błonie śluzowej jelit [18] oraz tkankach nowotworowych [14,16]. Występuje także w: surowicy i moczu [19].

HEX składa się z kilku izoenzymów wykazujących odmienną budowę, wrażliwość na ogrzewanie i neuraminidazę oraz różną ruchliwość w polu elektrycznym. Są to: HEX A, HEX B, HEX łożyskowy P, HEX C, HEX S oraz izoenzymy I₁, I₂. Najlepiej poznane są trzy izoenzymy HEX oznaczone symbolami A, B, S. HEX A ($\alpha\beta$) o masie cząsteczkowej 96–110 kDa [13,20–22], posiada optymalną stabilność w pH 4,2–4,8, jest ciepłochwiewny i ulega całkowitej inaktywacji po inkubacji w temperaturze 50°C w pH 5 przez cztery godziny. Właściwość tę wykorzystano w oznaczaniu jego aktywności metodą kolorymetryczną [22]. HEX B ($\beta_1\beta_2$) ma masę cząsteczkową 100–112 kDa [13,23]. HEX S ($\alpha\alpha$), występu-



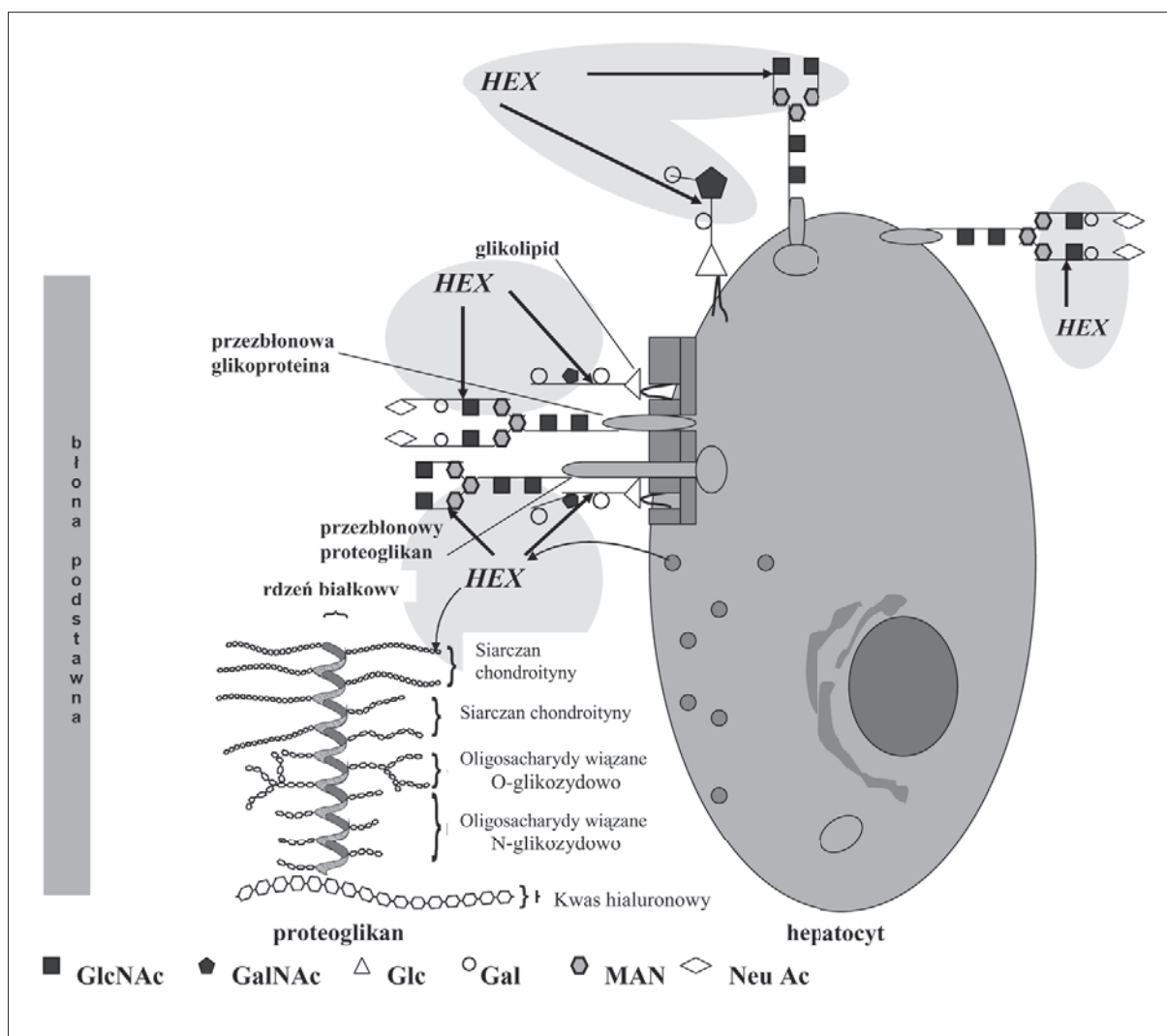
Rycina 2. Transport HEX.

je w śladowych ilościach w różnych tkankach, szczególnie tam gdzie jest upośledzona biosynteza podjednostki β i jest termolabilny podobnie jak HEX A [13,24].

U człowieka gen kodujący prekursorowy łańcuch pre-pro α jest zlokalizowany w obrębie chromosomu 15q23-q24, z kolei gen kodujący łańcuch pre-pro β – w obrębie chromosomu 5q13 [25–27]. Sekwencja aminokwasów tworząca łańcuchy pre-pro α i pre-pro β jest identyczna w blisko 60% [26]. Częsteczki pre-pro α i pre-pro β mają najwyższy stopień homologii w części środkowej, pośredni przy końcu C i najmniejszy przy końcu N [27]. Synteza obu cząsteczek prekursorowych zachodzi na rybosomach szorstkiej siateczki śródplazmatycznej [25], natomiast modyfikacje potranslacyjne (glikozylacja, częściowa proteoliza, fosforyzacja, powstanie wiązań disiarczkowych i nadanie obu peptydom odpowiedniej struktury przestrzennej), zachodzą wewnątrz siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, gładkiej i aparatu Golgiego [28,29]. Zmodyfikowane podjednostki HEX z aparatu Golgiego są transportowane do lizosomów, w których przekształcają się w dojrzałe łańcuchy α i β [13] (Rycina 2).

HEX w rozkładzie glikokoniugatów

N-acetylo- β -heksozaminidaza rozkłada łańcuchy oligosacharydowe glikokoniugatów [11–13]. Glikokoniugaty są zwią-



Rycina 3. Struktury oligosacharydowe degradowane przez HEX.

kami wielkocząsteczkowymi, zbudowanymi z łańcuchów oligosacharydowych (glikoproteiny i glikolipidy), lub poliheterosacharydowych (proteoglikany) połączonych z białkiem lub lipidem. Łańcuchy cukrowe mogą być połączone kowalencyjnie z białkiem albo lipidem wiązaniem N-glikozydowym (Rycina 1) lub O-glikozydowym.

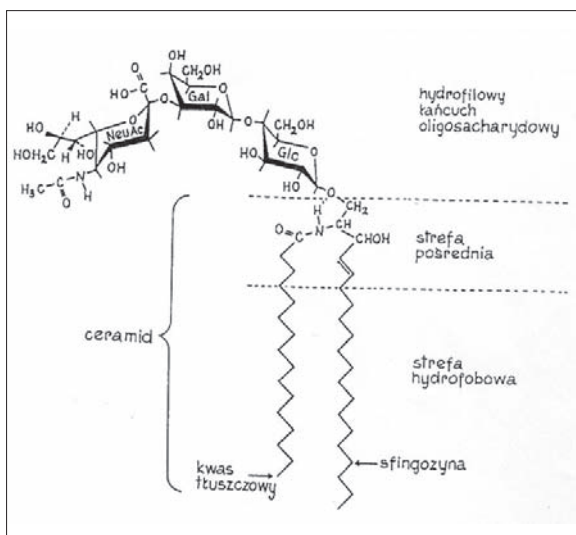
Glikoproteiny są to białka złożone, zbudowane z rdzenia białkowego, do którego przyłączane są łańcuchy węglowodanowe (glikanowe) [30] (Rycina 3). Do glikoprotein należą białka strukturalne, transportowe, receptorowe, wydzielnicze oraz białka o właściwościach immunologicznych: immunoglobuliny, antygeny zgodności tkankowej, kodowane przez geny MHC [31]. Glikoproteiny błonowe zakotwiczone są do błony komórkowej łańcuchami polipeptydowymi. Łańcuchy oligosacharydowe glikoprotein znajdują się na zewnętrznej powierzchni błony, tworzą płaszcz (zwany glikokaliksem), chroniący powierzchnię komórki przed proteolizą, patogennymi bakteriami, wirusami i denaturacją. Uważa się, że łańcuchy oligosacharydowe glikoprotein są nośnikami informacji w procesach rozpoznawania biologicznego [32]. Transportery glikoproteinowe przenoszą przez błonę komórkową do cytoplazmy kwasy żółciowe [33], glukozę, insulinę, czynniki wzrostu oraz wychwytyją z krążenia białka

posiadające charakterystyczne fragmenty łańcucha oligosacharydowego, takie jak: ceruloplazminę, alfa 1-glikoproteiny, N-acetylo-beta-heksozoaminidazę [34].

Glikolipidy są odrębną grupą glikokoniuugatów, w których jedna lub kilka reszt cukrowych połączonych jest O-glikozydowo z ceramidem (Rycina 4). Zawierają od kilku do kilkunastu reszt cukrowych, m. in. N-acetylgalaktozoaminę, galaktozę, fukozę, ale nie zawierają mannozy [35]. Glikolipidy stanowią główny składnik lipidowy błon cytoplazmatycznych. Oddziaływania glikolipidów z innymi składnikami błony poprzez wiązania wodorowe stabilizują strukturę błony komórkowej i decydują o jej właściwościach fizykochemicznych. Ceramid, kluczowy metabolit w biosyntezie i degradacji glikosfingolipidów uczestniczy w przetwarzaniu sygnałów zewnątrzkomórkowych, które prowadzą do proliferacji komórki, różnicowania, zatrzymania cyklu komórkowego i apoptycznej śmierci komórki [36].

Proteoglikany (Ryciny 3 i 5) są grupą glikoprotein zbudowanych z białka, do którego dołączony jest jeden lub więcej łańcuchów glikozaaminoglikanowych. Produkowane są prawdopodobnie w większości tkanek, gdzie występują zarówno w komórkach, jak i w przestrzeni pozakomórkowej





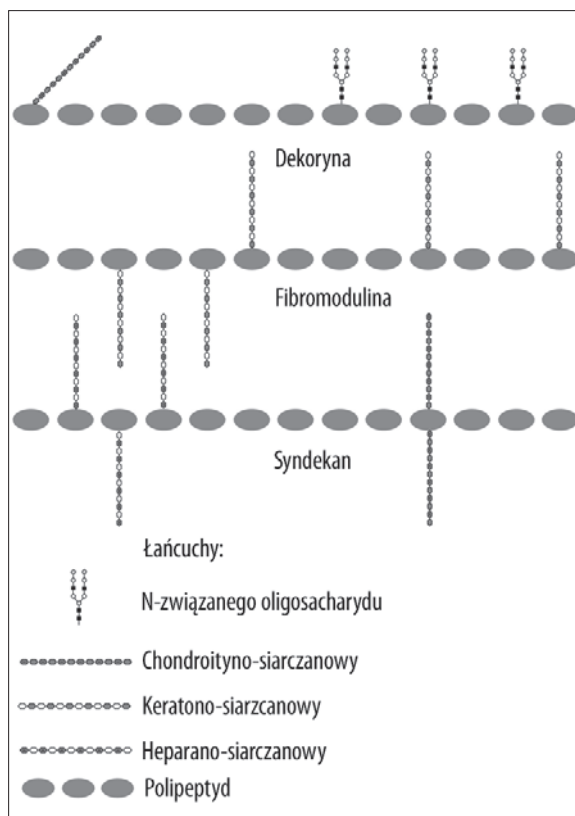
Rycina 4. Budowa glikolipidu.

[37]. Proteoglikany wątrobowe to glikoproteiny zbudowane z łańcucha polipeptydowego, do którego dołączony jest 1 (betaglikan, dekoryna), 1-3 (syndekan) czy 2-15 (perlan) łańcuchów glikozoaminoglikanowych (Rycina 5) [38]. Glikozoaminoglikany to liniowe polimery, zawierające od 40 do około 25000 powtarzających się disacharydowych jednostek (Rycina 6), złożonych z N-acetylowanej heksozoaminy (N-acetyloglukozoaminy lub N-acetylogalaktozoaminy), połączonej wiązaniem glikozydowym z kwasem uronowym (D-glukuronowym lub L-iduronowym) bądź z galaktozą [38]. Każda grupa hydroksylowa znajdująca się na powierzchni glikozoaminoglikanu, wiąże dwie cząsteczki wody, przy pomocy wiązań wodorowych. Dodatkowo ujemne ładunki grup karboksylowych i siarczanowych na powierzchni glikozoaminoglikanów wiążą znaczną liczbę uwodnionych kationów sodowych, co sprawia, że proteoglikany tak łatwo pochłaniają wodę (są hydrofilowe). Proteoglikany posiadają zdolność wytwarzania dużego ciśnienia osmotycznego oraz do nadania tkance turgoru. Ponadto glikozoaminoglikany proteoglikanów regulują aktywność: inhibitorów proteaz, lipoprotein osoczowych, cytokin i lipaz, a także tempo proliferacji komórek. Proteoglikany oddziałują specyficznie lub niespecyficznie z białkami za pośrednictwem rdzenia białkowego proteoglikanu i/lub łańcuchów glikozoaminoglikanowych [39].

Katabolizm glikokoniugatów

Glikokoniugaty podlegają ciągłej wymianie obejmującej rozkład starych cząsteczek i syntezę nowych. Degradacja glikokoniugatów zachodzi głównie w lizosomach przy udziale lizosomalnych enzymów hydrolitycznych. W rozkładzie glikokoniugatów udział biorą między innymi egzoglikozydazy, które w kwaśnym środowisku lizosomu odszczepiają pojedyncze reszty cukrowe od końca nieredukującego oligosacharydu. Egzoglikozydazy katalizują reakcje rozpadu wiązań glikozydowych w łańcuchach cukrowych, a każdy produkt reakcji poprzedniej jest substratem reakcji następnej [40] (Rycina 7).

Hydroliza łańcucha oligosacharydowego zachodzi zarówno od końca nieredukcyjnego (z dala od łańcucha polipeptydowego) jak i redukcyjnego (w pobliżu łańcucha polipep-

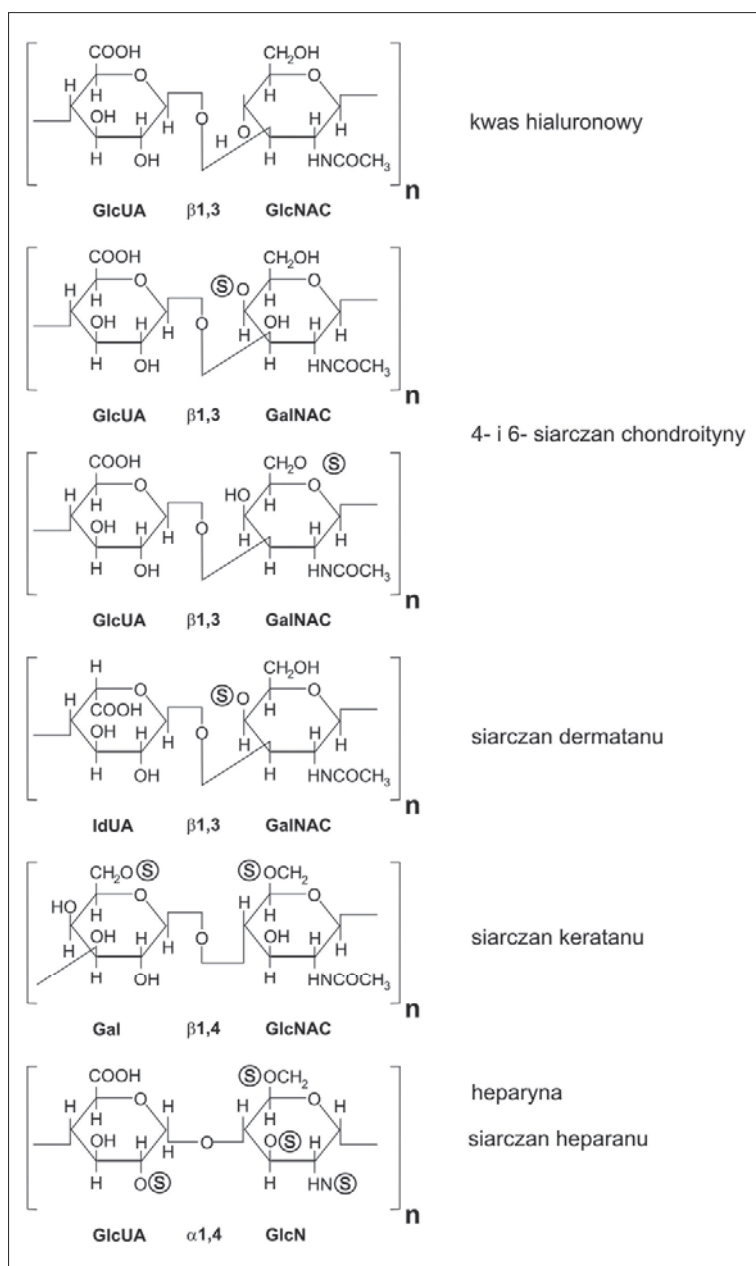


Rycina 5. Budowa proteoglikanów (według Lebensztejn i wsp.) [38].

tydowego). Rozkład glikoprotein rozpoczynają proteiny, które trawią łańcuch peptydowy, odszczepiając jednocześnie łańcuch cukrowy od asparaginy łańcucha polipeptydowego. W O-wiązanych łańcuchach oligosacharydowych glikoprotein endo- α -N-acetylogalaktozaminidaza hydrolyzuje wiązanie O-glikozydowe między N-acetylogalaktozoaminą a seryną lub treoniną, odszczepiając łańcuch oligosacharydowy od rdzenia białkowego. Od końca nieredukcyjnego sialidaza odszczepia kwas sialowy, a β -galaktozydaza resztę β -galaktozy. Równocześnie na końcu redukcyjnym α -fukozydaza uwalnia α -fukozę [41]. Aspartylglikozoaminidaza rozkłada wiązanie N-glikozydowe między łańcuchem cukrowym, a asparaginą [30]. Kolejnym etapem rozkładu łańcucha oligosacharydowego jest hydroliza wiązań między N-acetyloglukozoaminą (wcześniej połączoną z asparaginą), a N-acetyloglukozoaminą pozostałej części łańcucha cukrowego. W tej reakcji udział bierze endo-N-acetyloglukozoaminidaza. Jednocześnie z końca nieredukcyjnego N-acetylo- β -heksozoaminidaza odszczepia N-acetyloglukozoaminę połączoną z mannozą. Końcowym etapem katabolizmu glikoprotein jest działanie α i β mannozydaz, które odcinają reszty α i β -mannozydowe z nieredukującego końca oligosacharydu [11].

HEX jako wskaźnik cholestazy

W piśmiennictwie próby skorelowania aktywności transaminaz i enzymów cholestatycznych z aktywnością HEX nie przyniosły jednoznacznych wyników. W różnych typach marskości wątroby stwierdzano korelacje między aktywnością osoczowej HEX i aminotransferazami, podczas gdy w cholestazie tych zależności nie obserwowano [42]. Doniesienie Hultberg'a i wsp. [43] wskazuje na korelację między stężeniem bilirubiny



Rycina 6. Heksozoaminy w jednostkach disacharydowych glikoaminoglikanów (według Lebensztejn i wsp.) [38]. (Gal-galaktoza, GalNAC-N-acetylgalaktozoamina, GlcN-glukozoamina, GlcNAC-N-acetylglukozoamina, GlcUA- kwas glukuronowy, IdUA- kwas iduronowy.

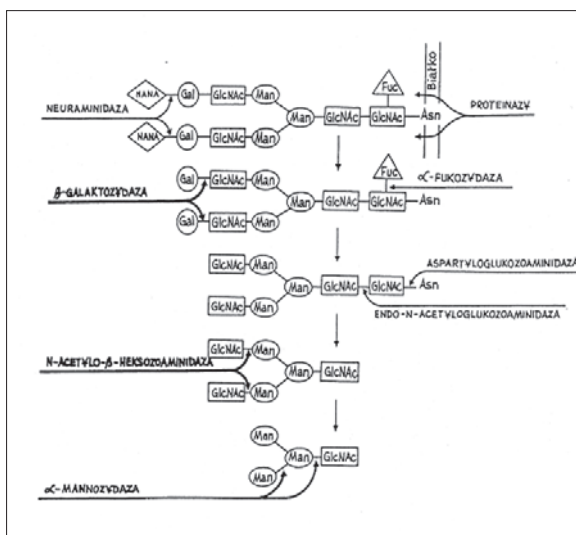
i aktywnością osoczowej HEX. Hultberg i wsp. [44] wykazali istnienie wzajemnej korelacji pomiędzy nasileniem cholestaty, bilirubiną i aktywnością HEX. Hultberg'a i wsp. stwierdzili znamienne statystycznie dodatnią korelację pomiędzy HEX i HEX B a stężeniem bilirubiny, jednego z najważniejszych wskaźników prognostycznych w grupie chorych z przewlekłą żółciową marskością wątroby (PZMW) [45].

HEX jako wskaźnik zapalnego uszkodzenia wątroby

Uwolnione do krążenia enzymy lizosomalne, w tym HEX, są wychwytywane przez specyficzne receptory zlokalizowane na powierzchni makrofagów, w tym również makrofagów wątrobowych rozpoznających mannozę wchodzącą w skład HEX [34]. Przyczyną wzrostu aktywności HEX i jej izoenzymów w surowicy krwi może być zahamowanie wychwytywania HEX przez makrofagi układu siateczkowo-śródbłonkowego

(mechanizm postulowany w uszkodzeniach wątroby spowodowanych zatruciem alkoholem) [46,47]. Dutkiewicz i wsp. [48] wykazali istotny wzrost aktywności HEX i jej izoenzymów A i B w surowicy krwi chorych z autoimmunologicznym zapaleniem wątroby (AZW) i pierwotnej żółciowej marskością wątroby (PZMW) w porównaniu do osób zdrowych. Wysoka aktywność HEX i jej izoenzymów może wynikać z ich udziału w degradacji uszkodzonych komórek wątroby lub zaangażowania w toczący się proces zapalny. Dutkiewicz i wsp. [48] wyrażają opinie, że oznaczenie aktywności HEX i jej izoenzymów w surowicy krwi może być wykorzystane jako marker w diagnostyce autoimmunologicznego zapalenia wątroby oraz w diagnostyce pierwotnej żółciowej marskością wątroby. O ile aktywność komórek wątrobowych znajduje odzwierciedlenie we wzroście HEX oraz aktywnościach transaminaz, wskaźnikach cholestatycznych w surowicy krwi, o tyle pobudzenie komórek Kupffera znajduje odzwierciedlenie tylko we wzroście aktywności enzymów lizosomalnych, głównie HEX [48,49].





Rycina 7. Miejsce N-acetylo- β -heksozoaminidazy w sekwencyjnej degradacji N-wiązanych łańcuchów oligosacharydowych glikoprotein (wg. Strecker i wsp. zmodyf.) [40].

HEX jako wskaźnik włóknienia wątroby

Obniżenie stężenia albumin i wskaźnika protrombinowego świadczy o progresji choroby do marskości bądź niewydolności wątroby wskutek przewagi procesów katabolicznych i nasilenia przebudowy tkanek [50]. Fakt ten może sugerować, że u chorych z PŻMW wzrost aktywności HEX [48], jest wyrazem nasilenia katabolizmu tkankowych glikokoniuugatów. Zwiększoną aktywność enzymów lizosomalnych wykazano w badaniach histochemicznych biopłatów wątroby u chorych z marskością i cholestatą [50]. Potwierdza to tezę, że HEX w surowicy, jak również inne enzymy lizosomalne, mogą być wyrazem nasilenia procesu zapalnego oraz włóknienia [44,51,52]. Koizumi i wsp. oraz Reglero i wsp. wykazali podwyższoną aktywność HEX w surowicy krwi u pacjentów z przewlekłym aktywnym zapaleniem wątroby, a także stwierdzili korelację z histologiczną oceną aktywności zapalnej i włóknienia [53–55].

HEX w nadużywaniu alkoholu

Okolo 10% populacji Polski nadużywa alkoholu, a 2,5% populacji to osoby uzależnione. Od 30 do 50% wszystkich chorób wątroby jest spowodowana nadużyciem alkoholu etylowego [56]. Badania ostatnich 20 lat sugerują, iż N-acetylo- β -heksozoaminidaza (HEX) – najaktywniejsza z egzoglikozydaz lizosomalnych, może mieć również zastosowanie jako tzw. nowoczesny marker nadużywania alkoholu. Zwiększona aktywność surowiczej HEX pozostaje w istotnym związku z nadużywaniem alkoholu etylowego przez alkoholików [57,58] oraz, jak stwierdziliśmy ostatnio, osoby zdrowe [59]. Spożycie przynajmniej 60 g alkoholu przez minimum 10 dni, zwiększa aktywność HEX w surowicy u 69–94% osób pijących, a po 7–10 dniach abstynencji aktywność enzymatyczna wraca do poziomu sprzed spożycia [57,60,61]. Uważa się, że podwyższony poziom HEX odzwierciedla wczesne uszkodzenie hepatocytów przez etanol i jego metabolity [42,47,59]. Kolejne badania wskazywały, że osoczowa oraz surowicza HEX jest czułym markerem tak uzależnienia od alkoholu, jak nadużywania alkoholu [62–65]. Wzrost

aktywności surowiczej HEX podczas nadużywania alkoholu, świadczy o uszkodzeniach błon lizosomalnych w komórkach wielu narządów, głównie: wątroby, nerek, śledziony, żołądka oraz jelit, indukowanych etanolem i jego metabolitami (aldehydem octowym, wolnymi rodnikami tlenowymi, etc.) [47,56,66]. Szczególnie aktywność izoenzymu B, a ostatnio% HEX B (stosunek procentowy HEX B do całkowitego HEX), wykazują większą czułość niż uznane markery nadużycia alkoholu: γ -glutamylotransferaza (GGT), aminotransferaza asparaginianowa i alaninowa (AspAT, ALAT), średnia objętość krwinki czerwonej (MCV), a nawet transferyna z wadliwymi łańcuchami oligosacharydowymi (CDT-Carbohydrate Deficient Transferrin) [67]. Z uwagi na to, że wątroba jest głównym narządem odpowiedzialnym za detoksykację etanolu, to jej komórki najczęściej ulegają uszkodzeniu w zatruciu alkoholem [66]. Konsumpcja alkoholu zmniejsza aktywność wielu glikohydrolaz w izolowanych lizosomach wątrobowych, zwiększając jednocześnie ich aktywność we krwi [68]. Zaproponowano wiele mechanizmów uszkodzenia komórek wątrobowych odpowiedzialnych za wzrost aktywności HEX we krwi indukowanych alkoholem: wzrost przepuszczalności błon lizosomalnych z następczym wyciekaniem HEX do komórki i następnie do krwi, opóźnienie eliminacji HEX z krwi, zaburzenia glikozylacji i transferu lizosomalnej glikohydrolazy do organeli komórkowych, wzrost syntezy HEX przez aktywowane leukocyty, lub uwalnianie z uszkodzonych komórek [57,58,68–70]. Wykazano, że aldehyd octowy oraz wolne rodniki tlenowe, uwalniane w trakcie intoksykacji alkoholem, mogą modyfikować białka i tłuszcze błon lizosomalnych i komórkowych, zwiększając lamliwość lizosomów oraz uwalnianie hydrolaz [71,72]. Zastępowanie cząsteczek wody przez cząsteczki etanolu, a także zmniejszenie syntezy ATP podczas intoksykacji, mogą przyczynić się do destabilizacji błon lizosomalnych [71,73]. Produkty nieoksydacyjnego utleniania etanolu i estry etylowe kwasów tłuszczowych (FAEE-fatty acid ethyl esters), mogą zaburzać stabilność błon, prowadząc w konsekwencji do lamliwości lizosomów [74]. U zdrowego człowieka HEX jest szybko usuwana z krążenia przez specyficzny system rozpoznawania w wątrobie, przeto zaburzona funkcja wątroby w przebiegu nadużywania alkoholu, może przyczynić się do wzrostu aktywności HEX w surowicy [75].

HEX moczu w chorobach wątroby

W diagnostyce chorób wątroby obok oznaczenia wątrobowych markerów w surowicy krwi można oznaczać aktywność HEX w moczu chorych. Taracha E i wsp. [76] badając aktywność HEX stwierdzili, że oznaczenie aktywności HEX w moczu może być uzupełnieniem, a nawet zastąpić surowicze markery wykorzystywane w diagnostyce chronicznego nadużywania alkoholu. Kärkkäinen P [19] badając aktywność HEX w surowicy krwi i moczu osób nadużywających alkohol stwierdził, że oznaczenie aktywności HEX w moczu może mieć większą wartość diagnostyczną od oznaczenia tego enzymu w surowicy krwi oraz, że podwyższona aktywność HEX utrzymuje się dłużej w moczu niż w surowicy krwi. Badanie aktywności HEX w moczu chorych z marskością wątroby wskazuje na istotnie wyższą aktywność tego enzymu u chorych z marskością wątroby w porównaniu do osób zdrowych [77]. Amakasu E i wsp. [78] w swoim badaniu stwierdzili, że oznaczenie aktywności HEX w moczu chorych z marskością wątroby jest użyteczne w diagnostyce wczesnego uszkodzenia nerek wynikającego z rozwoju choroby.

1. Pustkowski M: Żyjmy dłużej. <http://www.resmedica.pl/zdart5984.html>, 5 (maj) 1998
2. Tomaszewski JJ: Diagnostyka laboratoryjna. PZWL, Warszawa, 2001: 300–2
3. Chiang JY: Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors, and mechanisms. *J Hepatol*, 2004; 40: 539–51
4. Chouinard RA Jr, Luo Y, Osborn TF i wsp: Sterol regulatory element binding protein-1 activates the cholesteryl ester transfer protein *in vivo* but is not required for sterol up-regulation of gene expression. *J Biol Chem*, 1998; 273: 22409–14
5. Gutiérrez-Salinas J, Miranda-Garduno L, Trejo-Izquierdo E i wsp: Redox state and energy metabolism during liver regeneration. *Biochem Pharmacol*, 1999; 55: 1831–39
6. Brunello F, Marcarino C, Pasquero P i wsp: The des-gamma-carboxyprothrombin for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Ital J Gastroenterol*, 1993; 25: 9–12
7. Dembińska-Kieć A, Naskalski JW (red): Diagnostyka Laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej. Urban & Partber, Wrocław, 2002; 159–60, 523, 518–617, 853–883, 933–49
8. IUBMN Enzyme Nomenclature: www.iubmb.org
9. Kokot F, Kokot S: Badania Laboratoryjne. Zakres norm i interpretacja. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2002; 56–62, 113, 128, 184, 193, 212
10. Pawlak J, Zwierz K, Boroń-Kaczmarska A i wsp: Standardy postępowania w hepatologii u dorosłych. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Hepatologicznego. Medycyna po Dyplomie, 1999; wyd. spec: 126–49
11. Winchester B: Lysosomal metabolism of glycoproteins. *Glycobiology*, 2005; 15(6pp): 1R–15R
12. Suzuki K, Sango K, Proia RL i wsp: Mice deficient of all forms of lysosomal β -hexosaminidase show mucopolysaccharidosis-like pathology. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1997; 56: 693–703
13. Zwierz K, Zalewska A, Zoch-Zwierz A: Isoenzymes of N-acetyl-B-hexosaminidase. *Acta Biochem Pol*, 1999; 46: 739–51
14. Borzym-Kluczyk M, Radziejewska I, Olszewska E i wsp: Statistical evaluation of the isoform patterns of N-acetyl-beta-hexosaminidase from human renal cancer tissue separated by isoelectrofocusing. *Clin Biochem*, 2007; 4: 403–6
15. Elsafi ME, Hultberg B, Isaksson A i wsp: Lysosomes and human liver disease: a biochemical and immunohistochemical study of beta-hexosaminidase. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1994; 32(9): 669–73
16. Borzym-Kluczyk M, Radziejewska I, Knaś M i wsp: Electrofocusing of N-acetyl-beta-hexosaminidase (HEX) isoenzymes from liver carcinoma. *Experimental and Clinical Hepatology*, 2006 Vol. 2 no 2; 8th Scientific Conference of the Polish Association for the Study of the Liver (PALS) on: "Progress in Hepatology", Mikołajki, Poland, May 12th–14th, 2006. Abstracts Book. Proceedings Book. s. 26
17. Zwierz K, Gindzieński A: Oczyszczanie i właściwości izoenzymów N-acetylo-beta-D-glukoaminidazy z błony śluzowej ludzkiego żołądka. *Materiały XX Zjazdu PT Bioch Olsztyn*, 1984; 138
18. Zwierz K, Gindzieński A, Ostrowska L, Stankiewicz-Choroszuca B: Metabolism of glycoconjugates in human gastric mucosa. A review. *Acta Med Hung*, 1989; 46(4): 275–88
19. Kärkkäinen P: Serum and urinary beta-hexosaminidase as markers of heavy drinking. *Alcohol Alcohol*, 1990; 25(4): 365–69
20. Morita A, Numata Y, Kosugi Y i wsp: Stabilities of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) isoenzymes in urine: advantage of NAG isoenzyme B measurement in clinical applications. *Clin Chim Acta*, 1998; 278(10): 35–43
21. Yoshida KI: Demonstration and some properties of N-acetyl-B-D-hexosaminidase (HEX) C isoenzyme in human renal tissues: Relative increase in HEX C activity in renal cell carcinoma. *Clin Chim Acta*, 1994; 226: 55–65
22. Gelger B, Arnon R: Chemical characterization and subunit structure of human N-acetylhexosaminidases A and B. *Biochemistry*, 1976; 15: 3483–87
23. Ellis BG, Price RG: Urinary enzyme excretion during renal papillary necrosis induced in rats with ethylenamine. *Chem Biol Inter*, 1975; 11: 473–76
24. Czartoryska B: Glikozydazy lizosomalne w katabolizmie glikoheteropolimerów. *Post Biochem*, 1977; 23: 229–66
25. Zwierz K, Juszkiewicz J, Arciuch L i wsp: N-acetylo- β -D-heksozoaminidaza – enzym chorób Tay-Sachsa i Sandhoffa. *Post Biochem*, 1992; 38: 127–32
26. Neufeld EF: Natural history and inherited disorders of a lysosomal enzyme, beta-hexosaminidase. *J Biol Chem*, 1989; 264(19): 10927–30
27. Tse R, Wu YJ, Vavougiou G i wsp: Identification of functional domains within the alpha and beta subunits of beta-hexosaminidase A through the expression of alpha-beta fusion proteins. *Biochemistry*, 1996; 35(33): 10894–903
28. Kuznetsov G, Nigam SK: Folding of secretory and membrane proteins. *N Engl J Med*, 1998; 339(23): 1688–95
29. Tatu U, Helenius A: Interactions between newly synthesized glycoproteins, calnexin and a network of resident chaperones in the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol*, 1997; 136(3): 555–65
30. Endge CJ, Rademacher TW, Wormald MR i wsp: Fast sequencing of oligosaccharides. The reagent-array analysis method. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992; 89: 6338–42
31. Sharon N, Lis H: Lectins as cell recognition molecules. *Science*, 1989; 246: 227–34
32. Berger EG, Buddecke E, Kamerling JP i wsp: Structure, biosynthesis and function of glycoprotein glycans. *Experientia*, 1982; 38: 1129–62
33. Zwierz K, Wielgat P, Borzym-Kluczyk M: Molekularne mechanizmy regulacji transportu substancji drobnocząsteczkowych w obrębie hepatocytów. *Post Hig Med Dośw*, 2003; 57: 91–116
34. Ullrich K, Giselmann V, Mersmann G i wsp: Endocytosis of lysosomal enzymes by non-parenchymal rat liver cells. *Biochem J*, 1979; 182: 329–35
35. Kundu SK: Glycolipids: structure, synthesis, function. W: Allen HJ, Kisailus EC: *Glycoconjugates*, Marcel Dekker Inc., New York, 1992; 203–62
36. Riboni L, Viani P, Bassi R i wsp: Basic fibroblast growth factor-induced proliferation of primary astrocytes. *J Biol Chem*, 2002; 276(16): 12797–804
37. Bandtlow CE, Zimmermann DR: Proteoglycans in the developing brain: new conceptual insights for old proteins. *Physiol Rev*, 2000; 80(4): 1267–82
38. Lebensztejn DM, Sobaniec-Łotowska ME, Borzym-Kluczyk M i wsp: Biologia i morfologia włóknienia wątroby. *Med Sci Rev Hepatologia*, 2004; 4: 5–11
39. Sadowski M, Borzym-Kluczyk M, Stypułkowska A i wsp: Macierz międzykomórkowa ściany żyły. *Przegl Flebol*, 2006; 14(4): 141–49
40. Strecker G, Michalski JC, Montreuil J: Lysosomal catabolic pathway of N-glycosylprotein glycans. *Biochimie*, 1988; 70(11): 1505–10
41. Zwierz K, Gindzieński A, Ostrowska L i wsp: Metabolizm of glycoconjugates in human gastric mucosa – a review. *Acta Med Hung*, 1989; 46: 275–88
42. Hultberg B, Isaksson A, Berglund M: Serum B-hexosaminidase isoenzyme: a sensitive marker for alcohol abuse. *Clin Exp Res*, 1991; 15: 549–52
43. Hultberg B, Isaksson A, Jansson L: B-hexosaminidase in serum from patients with cirrhosis and cholestasis. *Enzyme*, 1981; 26: 296–300
44. Hultberg B, Palsson B, Isaksson A i wsp: Beta-hexosaminidase in bile and plasma from patients with cholestasis. *Liver*, 1995; 15: 153–58
45. Habor A, Krzeski P, Gugulski A: Primary biliary cirrhosis in Poland. *Gastroenterol Pol*, 1994; 1: 133–37
46. Halvorson MR, Campbell JL, Sprague G i wsp: Comparative evaluation of the clinical utility of three markers of ethanol intake: the effect of gender. *Alcohol Clin Exp Res*, 1993; 17: 225–29
47. Markowski T, Arciuch LP, Zwierz K i wsp: Diagnostyka laboratoryjna zespołu uzależnienia od alkoholu etylowego. *Post Hig Med Dośw*, 2001; 55: 113–20
48. Dutkiewicz E, Knaś M, Stypułkowska A i wsp: Activity of N-acetyl-beta-hexosaminidase and its isoenzymes in serum of patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis. *E & C Hepatology*, 2006; 2(4): 13–17
49. Skudlarek MD, Nowak EK: Processing of lysosomal enzymes in macrophages and kidney. In *Lysosomes in Biology and Pathology*. Amsterdam, Elsevier, 1984: 17–44
50. Hultberg B, Hägerstrand I, Isaksson A i wsp: Source of increased beta-hexosaminidase in rat liver cirrhosis. *Enzyme*, 1988; 40: 18–24



51. Pott G, Schneider M: Erkennung der fibroseaktivitaet bei chronischen Leberkrankheiten durch Prokolagen-Peptid typ III und N-acetyl-beta-Glukosaminidase. *Gastroenterology*, 1983; 108-12
52. Arciuch LP, Lebensztejn DM: The activity of N-acetyl-B-hexosaminidase and its isoenzymes in serum of children with chronic hepatitis. *Gastroenterol Pol*, 2003; 10: 223-25
53. Koizumi T, Mitsutani N: N-acetyl-B-glucosaminidase activity in hepatic fibrosis. *Lab Invest*, 1964; 13: 752-56
54. Reglero A, Carretero MI: Increased serum alpha-L-fucosidase and beta-N-acetylglucosaminidase activities in diabetic, cirrhotic and gastric cancer patients. *Clin Chim Acta*, 1980; 103: 155-58
55. Gressner AM, Poebruck P: Predictive values of serum N-acetyl-B-D-glucosaminidase for fibrotic liver disorders-correlation with monoamine oxidase activity. *Clin Chim Acta*, 1982; 124: 315-26
56. Waszkiewicz N, Szajda SD, Jankowska A i wsp: The Effect of Acute Ethanol Intoxication on Salivary Proteins of Innate and Adaptive Immunity. *Alcohol Clin Exp Res*, 2008; 32(4): 652-56
57. Hultberg B, Isaksson A, Tiderstrom G: Beta-hexosaminidase, leucine aminopeptidase, cystidyl aminopeptidase, hepatic enzymes and bilirubin in serum of chronic alcoholics with acute ethanol intoxication. *Clin Chim Acta*, 1980; 105: 317-23
58. Karkkainen P: Serum and urinary beta-hexosaminidase as markers of heavy drinking. *Alcohol Alcohol*, 1990; 25: 365-69
59. Waszkiewicz N, Szajda SD, Jankowska A i wsp: The effect of binge drinking session on the activity of salivary, serum, and urinary β -hexosaminidase: Preliminary data. *Alcohol & Alcoholism*, 2008; praca przyjęta do druku
60. Musshoff F, Daldrup T: Determination of biological markers for alcohol abuse. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1998; 713: 245-64
61. Sharpe PC: Biochemical detection and monitoring of alcohol abuse and abstinence. *Ann Clin Biochem*, 2001; 38: 652-64
62. Karkkainen P, Poikolainen K, Salaspuro M: Serum beta-Hexosaminidase as a marker of heavy drinking. *Alcoholism: Clin Exp Res*, 1990; 14(2): 187-90
63. Hultberg, B, Isaksson A, Berglund M i wsp: Serum beta-Hexosaminidase isoenzyme: a sensitive marker for alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res*, 1991; 15(3): 549-52
64. Zwierz, K, Zalewska A, Zoch-Zwierz A: Isoenzymes of N-acetyl-beta-hexosaminidase. *Acta Biochim Pol*, 1999; 46(3): 739-51
65. Markowski T, Ferens-Sieczkowska M, Zwierz K i wsp: Aktywność N-acetylo- β -heksozaminidazy i γ -glutamylotransferazy w surowicy osób uzależnionych od alkoholu hospitalizowanych po okresie przewlekłego picia. *Psychiatr Pol*, 2003; 37(3): 495-502
66. Waszkiewicz N, Szajda SD, Waszkiewicz M i wsp: Sylimaryna w chorobach wątroby. *Med Sci Rev Hepatol*, 2006; 6: 92-98
67. Javors MA, Johnson BA: Current status of carbohydrate deficient transferrin, total serum sialic acid, sialic acid index of apolipoprotein J and serum beta-hexosaminidase as markers for alcohol consumption. *Addiction*, 2003; 98(Suppl.2): 45-50
68. Kharbanda KK, McVicker DL, Zetterman RK i wsp: Ethanol consumption alters trafficking of lysosomal enzymes and affects the processing of procathepsin L in rat liver. *Biochim Biophys Acta*, 1996; 1291: 45-52
69. Hultberg B, Isaksson A, Berglund M i wsp: Increases and time-course variations in beta-hexosaminidase isoenzyme B and carbohydrate-deficient transferrin in serum from alcoholics are similar. *Alcohol Clin Exp Res*, 1995; 19: 452-56
70. Wehr H, Czartoryska B, Górka D i wsp: Serum beta-hexosaminidase and alpha-mannosidase activities as markers of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res*, 1991; 15: 13-15
71. Skrzydlewska E, Roszkowska A, Moniuszko-Jakoniuk J: A comparison of methanol and ethanol effects on the activity and distribution of lysosomal proteases. *Pol J Environ Stud*, 1999; 8: 251-57
72. Witek B, Kolataj A: Effect of ethanol administration on activities of some lysosomal hydrolases in the mouse. *Gen Pharmacol*, 1999; 32: 163-68
73. Klemm WR: Biological water and its role in the effects of alcohol. *Alcohol*, 1998; 15: 249-67
74. Laposata M, Szczepiorkowski ZM, Brown JE: Fatty acid ethyl esters: non-oxidative metabolites of ethanol. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1995; 52: 87-91
75. Karkkainen P, Jokelainen K, Roine R i wsp: The effects of moderate drinking and abstinence on serum and urinary beta-hexosaminidase levels. *Drug Alcohol Depend*, 1990; 25: 35-38
76. Taracha E, Habrat B, Chrapusta SJ i wsp: Combining markers of nephrotoxicity and hepatotoxicity for improved monitoring and detection of chronic alcohol abuse. *Clin Chem Lab Med*, 2006; 44(12): 1446-52
77. Bruno CM, Raciti C, Urso G i wsp: Urinary enzymes in liver cirrhosis: useful early markers of renal damage? *Minerva Med*, 1994; 85(4): 155-59
78. Amakasu H, Kanno A, Abe M i wsp: Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in liver cirrhosis with renal impairment. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi*, 1991; 88(1): 51-56
79. Kobata A: Principles of glycobiology. Tools for glycobiology Ed. Oxford Glyco-Systems, 1994: 3-7