

Aktywność N-acetylo- β -heksozaminidazy i γ -glutamyltransferazy w surowicy osób uzależnionych od alkoholu hospitalizowanych po okresie przewlekłego picia

The activity of N-acetyl- β -hexosaminidase and γ -glutamyltransferase in the serum of alcohol dependent people hospitalised after a long-lasting drinking period

Tomasz Markowski¹, Mirosława Ferens-Sieczkowska²,
Krzysztof Zwierz³, Aleksandra Wojtulewska¹

¹ Z Kliniki Psychiatrii AM w Białymstoku
Kierownik: dr hab. n. med. A. Czernikiewicz

² Z Zakładu Chemii i Immunochemii AM we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. I. Kątnik-Prastowska

³ Z Zakładu Biochemii Farmaceutycznej AM w Białymstoku

Summary

Aim: The aim of the study was to compare the activity of N-acetyl- β -hexosaminidase (HEX) and γ -glutamyltransferase (GGT) in the serum of alcohol dependent people hospitalised after a long-lasting drinking period.

Method: The studied group consisted of 30 alcohol dependent men hospitalised after a long-lasting drinking period. The control group consisted of 30 healthy men – social drinkers. The activity of HEX was determined with colorimetric method Chatterjee (modified by Zwierz). The activity of GGT was determined by kinetic method.

Results: The medium activity of HEX in the serum in the studied group on the 1st day of abstinence was 2.3 times higher than the control group ($p < 0.05$). The activity of HEX decreased during abstinence. Starting from the 10th day of abstinence the activity of HEX was similar to the control group. The medium activity of GGT in the serum of the studied group on the 1st day of abstinence was 7 times higher than in the control group ($p < 0.05$). The activity of GGT decreased during abstinence. On the 30th day of abstinence the activity of GGT in the studied group was 2.7 times higher as compared to the control group ($p < 0.05$).

Conclusions: • The activity of HEX and GGT in the serum significantly increases during long-lasting drinking period in alcohol dependent people. • Increased HEX activity in the serum can be a more sensitive marker of long-lasting drinking period than GGT activity. The normalisation of HEX activity in the serum during abstinence in alcohol dependent

Słowa kluczowe: N-acetylo- β -heksozaminidaza, γ -glutamyltransferaza, wskaźniki

przewlekłego picia alkoholu

Key words: N-acetyl- β -hexosaminidase, γ -glutamyltransferase,

Wstęp

Zmiany aktywności N-acetylo- β -heksozoaminidazy (HEX) oraz γ -glutamylotransferazy (GGT) w surowicy pozostają w istotnym związku z nadużywaniem i uzależnieniem od alkoholu etylowego [1, 2, 3]. Badania ostatnich lat wskazują na przydatność oznaczania HEX w surowicy i w moczu do monitorowania abstynencji u osób uzależnionych od alkoholu [4, 5]. Podkreśla się, że zwiększona aktywność HEX może być czulszym wskaźnikiem nadużywania alkoholu niż rutynowo oznaczane wskaźniki przewlekłego picia, takie jak: aminotransferaza asparaginianowa (AspAT), aminotransferaza alaninowa (AlAT), γ -glutamylotransferaza (GGT), średnia objętość krwinki czerwonej (MCV) [6]. Na uwagę zasługuje również fakt, że aktywność HEX w płynach ustrojowych może być oceniana prostą i tanią metodą kolorymetryczną [7].

Zwiększenie się aktywności GGT w surowicy jest czułym wskaźnikiem chorób wątroby. Należy podkreślić, że często spotyka się podwyższenie aktywności GGT przy braku zmian aktywności AspAT i AlAT. Dotyczy to szczególnie poalkoholowego uszkodzenia wątroby, w którego rozpoznawaniu przypisuje się większe znaczenie oznaczaniu aktywności GGT w surowicy niż oznaczaniu aminotransferaz. Wzrost aktywności GGT, mimo że ma większe znaczenie niż wskaźniki AspAT i AlAT, nie jest czułym markerem nadużywania alkoholu [8]. Celem naszej pracy jest porównanie aktywności HEX i GGT w surowicy osób uzależnionych od alkoholu hospitalizowanych po okresie przewlekłego picia.

Material i metoda

Aktywność HEX i GGT w surowicy oznaczano u pacjentów Oddziału Leczenia Odwykowego SPP ZOZ w Choroszczy. Wszyscy spełniali kryteria uzależnienia od alkoholu według ICD-10 [9] i DSM-IV [10] i zostali przyjęci do szpitala po okresie przewlekłego picia, w pierwszym dniu abstynencji. Do badań nie kwalifikowano osób z innymi niż uzależnienie od alkoholu schorzeniami, mogącymi przebiegać z podwyższeniem się aktywności HEX i GGT w surowicy, np.: ciężkie niealkoholowe choroby wątroby i dróg żółciowych, zawał mięśnia sercowego, nadciśnienie tętnicze krwi, cukrzyca, posocznica, choroby nerek, infekcje dróg moczowych, tyreotoksykoza, krzemica [4, 11, 12].

Utworzono dwie grupy osób, od których pobierano materiał do badań. Grupę uzależnionych od alkoholu (grupa badana) stanowiło 30 mężczyzn w wieku od 22 do 67 lat (średnia 38,8, odchylenie standardowe – SD 12,7). Okres uzależnienia od alkoholu w grupie badanej wynosił od 2 do 40 lat (średnia 15,3, SD 10,3). Okres codziennego spożywania alkoholu wynosił od 4 do 180 dni (średnia 34,1, SD 40,4), deklarowana ilość dziennie spożywanego alkoholu w przeliczeniu na 100% etanol wynosiła od 150 do 800 g (średnia 378,3, SD 178,9). Pobieranie materiału do badań wykonywano w grupie badanej w 1, 4, 7, 10, 14 i 30 dobie abstynencji od alkoholu. W trakcie detoksykacji pacjenci otrzymywali dożylnie płyny: 0,9% NaCl, 5% glukoza, płyn wieloelektrolitowy. W przypadku nasilonych objawów zespołu abstynencyjnego

u części chorych podawano diazepam (do 50 mg/dobę) oraz haloperidol (do 20 mg/dobę).

Grupa osób nie nadużywających i nie uzależnionych od alkoholu (grupa kontrolna) liczyła 30 mężczyzn w wieku od 24 do 56 lat (średnia 33,6, SD 9,6). Ostatni raz spożywali oni alkohol od 1 do 30 dni (średnia 10,6, SD 10,2) przed pobraniem materiału, w ilości od 20 do 400 g (średnia 56,1, SD 63,9) w przeliczeniu na 100% etanol. Deklarowane miesięczne spożycie alkoholu w grupie kontrolnej wynosiło od 50 do 800 g (średnia 238,0, SD 173,3) w przeliczeniu na 100% etanol.

Aktywność HEX oznaczono metodą Chatteriee i wsp. [13] w modyfikacji Zwierza i wsp. [11]. Jako substratu użyto p-nitrofenylo-2-acetamido-2-deoksy-β-D-glukopiranozydu (Sigma, USA). Ekstynkcję p-nitrofenolu (pNP), uwolnionego w wyniku reakcji enzymatycznej HEX z substratem, mierzono kolorymetrycznie, używając spektrofotometru Specol, długość fali 410 nm.

Tabela 1

Porównanie aktywności HEX i GGT w surowicy osób uzależnionych od alkoholu, hospitalizowanych po okresie przewlekłego picia, i osób nie uzależnionych i nie nadużywających etanolu

Grupa badana – uzależnieni od alkoholu etylowego	Symbol grupy	n	HEX (mka/dl)	SD	GGT (IU/l)	SD
1 dzień abstynencji	A1	30	573*	299	88*	134
4 dni abstynencji	A4	30	385*	197	68*	77
7 dni abstynencji	A7	30	320*	155	54*	51
10 dni abstynencji	A10	30	286	121	48*	43
14 dni abstynencji	A14	30	250	47	42*	39
30 dni abstynencji	A30	30	238	43	38*	29
Grupa kontrolna – nie uzależnieni i nie nadużywający alkoholu etylowego	K	30	250	51	13	5

* gwiazdką zaznaczono wyniki statystycznie znamienne

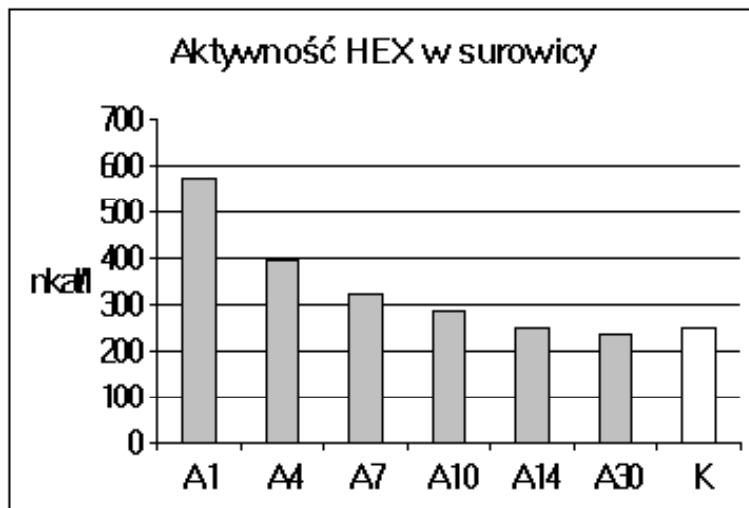
Aktywność GGT oznaczano metodą kinetyczną na aparacie Mascott Lisa Plus firmy Hycel.

Wyniki uzyskane w grupie badanej porównywano z wynikami grupy kontrolnej, przyjmując za normę średnią \pm 2 odchylenia standardowe. Wyniki uzyskane w poszczególnych grupach mężczyzn uzależnionych od alkoholu porównywano z wynikami w grupie kontrolnej. Dla każdej badanej cechy w poszczególnych grupach wyliczono średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Do porównania cech w grupie badanej i grupie kontrolnej zastosowano test Manna–Whitneya. W obliczeniach za poziom istotności przyjęto $p < 0,05$. Obliczeń dokonano używając pakietu statystycznego SPSS.

Wyniki

Średnia aktywność HEX w surowicy w grupie mężczyzn uzależnionych od alkoholu

(rys.1) w 1 dniu abstynencji (grupa A 1) była około 2,3 razy większa niż w grupie kontrolnej ($p<0,05$). 24 na 30 mężczyzn z grupy A 1, to jest 80%, miało aktywność HEX przekraczającą średnią plus 2 odchylenia standardowe dla grupy kontrolnej. Aktywność HEX systematycznie zmniejszała się w czasie abstynencji, a najbardziej dynamiczny spadek miał miejsce w okresie od 1 do 4 dnia i wyniósł około 30%. Od 10 dnia abstynencji aktywność całkowita HEX w grupie uzależnionych od alkoholu



Rys. 1 Aktywność HEX w surowicy

nkat/l (nanokatal na liter) – aktywność HEX w surowicy

A1 – grupa badana, 1 dzień abstynencji

A4 – grupa badana, 4 dzień abstynencji

A7 – grupa badana, 7 dzień abstynencji

A10 – grupa badana, 10 dzień abstynencji

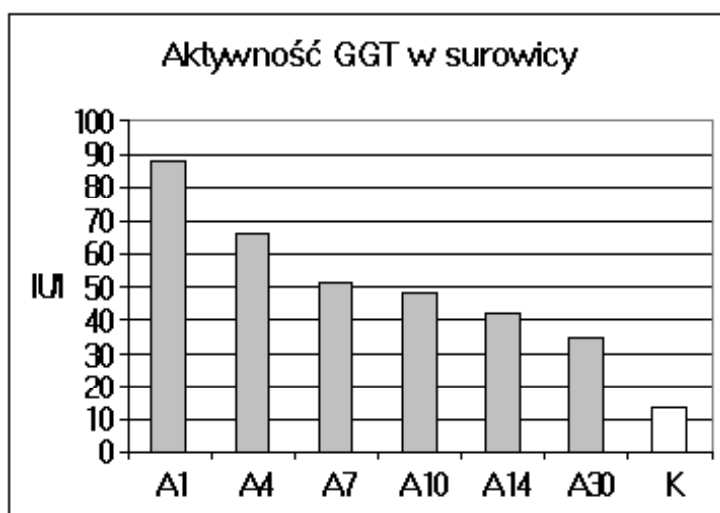
A14 – grupa badana, 14 dzień abstynencji

A30 – grupa badana, 30 dzień abstynencji

K – grupa kontrolna

była na poziomie zbliżonym do grupy kontrolnej.

Średnia aktywność GGT w surowicy w grupie mężczyzn uzależnionych od alkoholu (rys. 2) w 1 dniu abstynencji była około 7 razy wyższa niż w grupie kontrolnej ($p<0,05$). 17 na 30 mężczyzn z grupy A 1, to jest 56,7%, miało aktywność GGT przekraczającą średnią plus 2 odchylenia standardowe dla grupy kontrolnej. Aktywność GGT systematycznie zmniejszała się w czasie abstynencji, a najbardziej dynamiczny spadek miał miejsce w okresie od 1 do 4 dnia i wyniósł około 25%. W 30 dniu abstynencji aktywność GGT w grupie badanej była 2,7 razy większa w stosunku do grupy kontrolnej ($p<0,05$).



Rys. 2 Aktywność GGT w surowicy

IU/l (jednostka międzynarodowa na liter) – aktywność GGT w surowicy

A1 – grupa badana, 1 dzień abstynencji

A4 – grupa badana, 4 dzień abstynencji

A7 – grupa badana, 7 dzień abstynencji

A10 – grupa badana, 10 dzień abstynencji

A14 – grupa badana, 14 dzień abstynencji

A30 – grupa badana, 30 dzień abstynencji

K – grupa kontrolna

Omówienie wyników

HEX jest enzymem lizosomalnym, a jego zwiększona aktywność w surowicy podczas ciągu alkoholowego świadczy o uszkodzeniach, jakim mogą podlegać błony lizosomów komórek różnych narządów, głównie wątroby, nerek, śledziony, żołądka i jelit, pod wpływem etanolu i jego metabolitów [12, 14]. Fakt, że u 80% uzależnionych od alkoholu stwierdzano znaczące zwiększenie się aktywności HEX w porównaniu z grupą kontrolną może świadczyć, że HEX jest czułym wskaźnikiem przewlekłego picia alkoholu etylowego. Potwierdzają to również badania przeprowadzone w innych ośrodkach [2, 4, 6]. Jednak wykrywanie nadmiernego i przewlekłego spożycia alkoholu na podstawie aktywności HEX może mieć zastosowanie wówczas, jeśli okres abstynencji nie przekroczy 7 dni.

GGT jest enzymem występującym głównie w wątrobie i drogach żółciowych, a także w trzustce, w jelicie i mięśniu sercowym. Enzym ten jest syntetyzowany przez wątrobę, a następnie przechodzi do żółci (tzw. enzym ekskrecyjny). Zdrowa wątroba zawiera GGT w niewielkiej ilości, raczej pomiędzy beleczkami wątrobowymi w ścianach sinusoidów, ponieważ wydzielany on jest stale do systemu żółciowego. W wyniku przewlekłego nadużywania alkoholu dochodzi do morfologicznych zmian

**Aktivität von N-acetylo- β -hexoaminidase und γ -glutamyltransferase
im Blutserum der alkoholabhängigen Personen, die nach dem chronischen
Trinken hospitalisiert wurden**

Zusammenfassung

Ziel der Forschungen: Das Ziel der vorliegenden Arbeit war der Vergleich der Aktivität von HEX und GGT im Blutserum der alkoholabhängigen Personen, die nach der Zeit des chronischen Trinkens hospitalisiert wurden.

Methode: Die untersuchte Gruppe bildeten 30 alkoholabhängige Männer, die nach dem chronischen Trinken hospitalisiert wurden. Die Kontrollgruppe waren 30 gesunde Männer, die nicht alkoholabhängig waren und die Alkohol nicht mißbrauchten. Die Aktivität von HEX markierte man mit der kolometrischen Methode von Chatterjee in der Modifikation von Zwierz. Die Aktivität von GGT wurde mit der kinetischen Methode markiert.

Ergebnisse: Die durchschnittliche Aktivität von HEX im Blutserum der Untersuchten war im ersten Abstinenztag ca. 2,3 mal größer als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Die Aktivität von HEX sank in der Abstinenzzeit. Vom 10. Abstinenztag an war die völlige Aktivität von HEX in der untersuchten Gruppe ähnlich wie in der Kontrollgruppe. Die durchschnittliche Aktivität von GGT im Blutserum der Untersuchten war im ersten Abstinenztag ca. 7 mal höher als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Die Aktivität von GGT sank in der Abstinenzzeit. Im 30. Abstinenzzeit war die Aktivität von GGT in der untersuchten Gruppe 2,7 mal höher im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Schlussfolgerungen: • Die Aktivität von HEX und GGT im Blutserum steigt wirklich in der Zeit des chronischen Trinkens von Ethanol im Alkoholabhängigkeitssyndrom. • Die höhere Aktivität von HEX im Blutserum kann ein empfindlicherer Index des chronischen Trinkens sein als GGT. • Die Normalisierung der Aktivität von HEX erfolgt im Blutserum in der Abstinenzzeit bei Alkoholabhängigen viel schneller als die von GGT.

**L'activité de N-acetyl- β -hexosaminidase et γ -glutamyltransferase dans le sérum des
alcooliques hospitalisés après la période prolongée de boire**

Résumé

Objectif: Analyse comparative de l'activité de HEX et de GGT dans le sérum des alcooliques hospitalisés après la période prolongée de boire.

Méthode: On examine le groupe de 30 hommes – alcooliques et le groupe de contrôle – 30 hommes saines non-alcooliques. L'activité de HEX est mesurée à l'aide de la méthode de colorimétrie de Chatterjee modifiée par Zwierz. L'activité de GGT est mesurée à l'aide de la méthode cinétique.

Résultats: Activité moyenne de HEX des alcooliques après 1 jour d'abstinence est 2,3 fois plus grande que des personnes du groupe de contrôle ($p < 0,05$). Cette activité de HEX diminue au cours de l'abstinence. Après 10 jours elle est presque la même que dans le groupe des personnes saines. L'activité moyenne de GGT des alcooliques après 1 jour d'abstinence est environ 7 fois plus élevée que dans le groupe de contrôle ($p < 0,05$) et elle diminue au cours de l'abstinence. Après 30 jours d'abstinence l'activité de GGT des alcooliques est encore 2,7 fois plus élevée que dans le groupe de contrôle ($p < 0,05$).

Conclusions: • Activités de HEX et de GGT dans le sérum augmentent d'une manière considérable au cours de l'alcoolisme prolongé. • Activité de HEX peut constituer un facteur plus visible de l'alcoolisme prolongé que celle de GGT. • Normalisation de l'activité de HEX procède plus vite que celle de GGT pendant l'abstinence.

Piśmiennictwo

1. Elsafi ME, Hultberg B, Isaksson A, Hagerstrand I, Prytz H, Stenram U. *Lysosomes and human liver disease: a biochemical and immunohistochemical study of beta-hexosaminidase*. Eur. J. Clin. Chem Clin. Biochem. 1994; 32: 669–673.
2. Stowell L, Stowell A, Garrett N, Robinson G. *Comparison of serum beta-hexosaminidase isoenzyme B activity with serum carbohydrate-deficient transferrin and other markers of alcohol abuse*. Alcohol. Alcohol. 1997; 32: 703–714.
3. Taracha E, Habrat B, Chmielewska K, Baran H, Szukalski B. *Zastosowanie oznaczania β -heksozaminidazy w moczu do diagnostyki nadużywania alkoholu przez osoby uzależnione od opiatów biorące udział w programie substytucyjnego leczenia metadonem*. Psychiatr. Pol. 1999; 33: 215–224.
4. Karkkainen P. *Serum and urinary beta-hexosaminidase as markers of heavy drinking*. Alcohol. Alcohol. 1990; 25: 365–369.
5. Wehr H, Habrat B, Czartoryska B, Górka D, Woronowicz B. *Aktywność beta-heksozaminidazy w moczu jako marker nadużywania alkoholu u osób uzależnionych*. Psychiatr. Pol. 1995; 29: 689–696.
6. Halvorson MR, Campbell JL, Sprague G, Slater K, Noffsinger JK, Peterson CM. *Comparative evaluation of the clinical utility of three markers of ethanol intake: the effect of gender*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1993; 17: 225–229.
7. Zwierz K, Gindzieński A, Głowacka D, Porowski T. *The degradation of glycoconjugates in the human gastric mucous membrane*. Acta Med. Hung. 1981; 38: 145–152.
8. Gibiński K. *Biochemia chorób narządu trawienia – wątroba*. W: Sznajd J, red. *Biochemia kliniczna w praktyce lekarskiej*. Warszawa: PZWL; 1983, s. 344–361.
9. *Klasyfikacja Zaburzeń Psychicznych i Zaburzeń Zachowania w ICD-10, Badawcze kryteria diagnostyczne*. Kraków–Warszawa: Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Vesalius”, Instytut Psychiatrii i Neurologii; 1998, s. 55–68.
10. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. Fourth edition. Washington DC: American Psychiatric Association; 1994, s. 175–272.
11. Zwierz K, Juskiewicz J, Arciuch LP, Gindzieński A. *N-acetylo- β -D-heksozaminidaza – enzym chorób Tay-Sachsa i Sandhoffa*. Post. Biochem. 1992; 38: 127–132.
12. Zwierz K, Zalewska A, Zoch-Zwierz W. *Isoenzymes of N-acetyl- β -hexosaminidase*. Acta Biochem. Pol. 1999; 46: 739–751.
13. Chatterjee S, Velicer L F., Sweeley CC. *Glycosphingolipid glycosyl hydrolases and glycosidases of synchronized human K B cells*. J. Biol. Chem. 1975; 250: 4972–4979.
14. Fernandes MJ, Yew S, Leclerc D, Henrissat B, Vorgias CE, Gravel RA, Hechtman P, Kaplan F. *Identification of candidate active site residues in lysosomal β -hexosaminidase A*. J. Biol. Chem. 1997; 272: 814–820.

Otrzymano: 15.03.2002

Zrecenzowano: 20.05.2002

Przyjęto do druku: 27.01.2003

Adres: Tomasz Markowski
Klinika Psychiatrii
Akademia Medyczna w Białymstoku
16-070 Choroszcz k. Białegostoku
plac dr. Z. Brodowicza 1