

Beata Zalewska-Szajda¹, Katarzyna Taranta-Janusz², Elżbieta Gościak¹,
Krzysztof Zwierz³, Aleksandra Dorosz², Anna Wasilewska²

Otrzymano: 20.01.2019
Zaakceptowano: 07.02.2019
Opublikowano: 29.11.2019

Egzoglikozydazy lizosomalne w moczu dzieci i młodzieży

Lysosomal exoglycosidases in the urine of children and adolescents

¹ Zakład Diagnostyki Obrazowej, Dziecięcy Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, Białystok, Polska

² Klinika Pediatrii i Nefrologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, Polska

³ Katedra Nauk Podstawowych, Wydział Nauk o Zdrowiu, Państwowa Wyższa Szkoła Informatyki i Przedsiębiorczości w Łomży, Łomża, Polska

Adres do korespondencji: Beata Zalewska-Szajda, Zakład Diagnostyki Obrazowej, Dziecięcy Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, ul. Waszyngtona 17, 15-274 Białystok, tel.: +48 85 745 06 33, e-mail: sbszajda@gmail.com

Streszczenie

Klasyczne wskaźniki oceniające funkcję nerek, tj. stężenie kreatyniny, wskaźnik przesączania kłębuszkowego (GFR) i klirens kreatyniny endogennej, wciąż nie dość dokładnie charakteryzują procesy chorobowe toczące się w nerkach i nie są wystarczające dla właściwego doboru metody, prognozowania skuteczności i monitorowania efektywności leczenia chorób nerek. W związku z tym istnieje potrzeba poszukiwania markerów pozwalających na ocenę funkcji nerek w sposób tani, łatwy i powtarzalny. Przydatne w diagnostyce chorób nerek mogą być aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych: N-acetylo-β-D-heksozaminidazy (HEX), jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B), α-fukozydazy (FUC), β-galaktozydazy (GAL), β-glukuronidazy (GLU) i α-mannozydazy (MAN), wydalanych w minimalnych ilościach do moczu zdrowych dzieci i młodzieży, wykazujących istotny wzrost w stanach patologicznych. Takie wnioski są możliwe dzięki analizie wyników badań własnych nad aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu zdrowych dzieci i młodzieży, a także u dzieci i młodzieży z nadciśnieniem tętniczym, zwężeniem podmiędniczkowym moczowodu oraz z wrodzonym lub nabytym brakiem nerki, jak również dzięki analizie wyników badań innych autorów dotyczących aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu dzieci i młodzieży w różnych chorobach nerek.

Słowa kluczowe: dzieci i młodzież, wartości prawidłowe, choroby nerek, egzoglikozydazy lizosomalne, moczu

Abstract

Standard indices of renal function, i.e. creatinine, glomerular filtration rate (GFR) and endogenous creatinine clearance, still fail to accurately characterise disease processes in kidneys and are not sufficient for proper therapy selection, efficacy prediction and treatment efficacy monitoring for renal diseases. Therefore, markers that allow for an inexpensive, easy and reproducible kidney function assessment should be sought. Lysosomal exoglycosidases, such as N-acetyl-β-D-hexosaminidase (HEX), its isoenzymes A (HEX A) and B (HEX B), α-fucosidase (FUC), β-galactosidase (GAL), β-glucuronidase (GLU) and α-mannosidase (MAN), excreted in minimal amounts in the urine of healthy children and adolescents, yet showing a significant increase in pathological conditions, may be useful in the diagnosis of kidney disease. Such conclusions were a result of our research on the activity of lysosomal exoglycosidases in the urine of healthy children and adolescents compared to children and adolescents with hypertension, ureteropelvic junction obstruction, and congenital or acquired solitary functioning kidney, as well as based on the findings on the urinary activity of lysosomal exoglycosidases in children and adolescents with various kidney diseases, which were obtained by other authors.

Keywords: children and adolescents, normal values, kidney diseases, lysosomal exoglycosidases, urine

WSTĘP

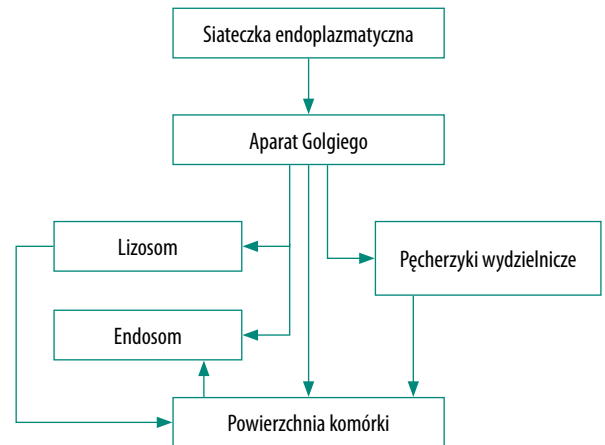
Głównym zadaniem nerek jest produkcja moczu. Nerki są również „fabryką” hormonów: reniny (zaangażowanej w regulację ciśnienia tętniczego) oraz erytropoetyny (pobudzającej wytwarzanie erytrocytów). Produkowane są w nich prostaglandyny oraz kininy (działające rozszerzająco na naczynia krwionośne). W nerkach ma miejsce synteza aktywnej postaci witaminy D⁽¹⁻⁴⁾. Nerki są wrażliwe na działanie hormonów zaangażowanych w regulację ciśnienia tętniczego, np. wazopresyny (hormonu antydiuretycznego; *antidiuretic hormone*, ADH) czy przedsionkowego peptydu natriuretycznego (*atrial natriuretic peptide*, ANP)^(5,6). Biorą również udział w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej i wpływają na gospodarkę kwasowo-zasadową⁽⁵⁾.

Klasycznymi wskaźnikami oceniającymi funkcję nerek są: stężenie kreatyniny, wskaźnik przesączania kłębuszkowego (*glomerular filtration rate*, GFR) i klirens kreatyniny endogennej. W diagnostyce nerek przydatne są również: cystatyna C, lipokalina-1 związana z żelatynazą neutrofilii (*neutrophil gelatinase associated lipocalin-1*, NGAL-1), cząsteczka-1 uszkodzenia nerek (*kidney injury molecule 1*, KIM-1) oraz albuminuria i wskaźnik albuminowo-kreatyninowy, pozwalające na wcześniejsze i bardziej trafne rozpoznanie chorób nerek i tym samym szybkie wdrożenie właściwego leczenia⁽⁷⁾. Markery te pozostają wciąż niedoskonałe i obciążone błędami, a także nie dość dokładnie charakteryzują proces chorobowy toczący się w nerkach i nie są wystarczające dla właściwego doboru metody, prognozowania skuteczności i monitorowania efektywności leczenia. Wobec tego istnieje potrzeba poszukiwania innych wskaźników funkcji nerek. Jednym z takich wskaźników może być aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu⁽⁸⁾.

Celem niniejszej pracy jest omówienie znaczenia aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych: N-acetylo- β -D-heksozoaminidazy (HEX), jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B), α -fukozydazy (FUC), β -galaktozydazy (GAL), β -glukuronidazy (GLU) i α -mannozydazy (MAN) w moczu jako potencjalnych markerów chorób nerek u dzieci i młodzieży.

EGZOGLIKOZYDAZY LIZOSOMALNE

Egzoglikozydazy lizosomalne⁽⁸⁾: HEX, FUC, GAL, GLU oraz MAN biorą udział w modyfikacji łańcuchów oligosacharydowych glikokoniugatów w aparacie Golgiego i siateczce endoplazmatycznej oraz w degradacji glikokoniugatów (obok aminohydrolaz i endoglikozydaz). Egzoglikozydazy odszczepiają pojedyncze reszty cukrowe od końca nieredukującego oligosacharydów glikoprotein, proteoglikanów i glikolipidów w lizosomach, głównych organellach trawiennych komórki⁽⁹⁾. Egzoglikozydazy lizosomalne zlokalizowane wewnątrz pęcherzyka lizosomalnego częściowo dyfundują i są częściowo związane z błoną, tworząc swoisty system wieloenzymatyczny (ryc. 1)⁽¹⁰⁾.



Ryc. 1. Transport enzymów lizosomalnych⁽¹⁰⁾

EGZOGLIKOZYDAZY LIZOSOMALNE W MOCZU

Choroby nerek stanowią poważny problem współczesnej medycyny, ponieważ przez długi czas przebiegają bezobjawowo, co prowadzi do opóźnienia w ich rozpoznaniu. Dlatego konieczne jest poszukiwanie odpowiednio czułych, nieinwazyjnych i tanich metod pozwalających na ocenę funkcji nerek i rozpoznanie ich chorób we wczesnym (bezobjawowym) stadium ich rozwoju.

Badanie moczu, będące jednym z podstawowych badań laboratoryjnych, obejmuje ocenę jego właściwości fizycznych i chemicznych oraz mikroskopowe badanie osadu moczu. Mocz bada się w celu wykrycia zmian w układzie moczowym i nerkach: zakażeń, obecności złogów, niewyrównanej cukrzycy, a także w nadciśnieniu tętniczym i/lub cukrzycy oraz w innych chorobach. Badanie moczu jest proste, nieinwazyjne, tanie i ogólnodostępne; mimo swojej prostoty dostarcza istotnych informacji o naszym stanie zdrowia⁽¹¹⁾. Wskaźnikami pomocnymi w diagnostyce chorób nerek mogą być egzoglikozydazy lizosomalne: N-acetylo- β -D-heksozoaminidaza (HEX), α -fukozydaza (FUC), β -galaktozydaza (GAL), β -glukuronidaza (GLU) oraz α -mannozydaza (MAN)⁽⁸⁾, produkowane w nabłonku cewek nerkowych i wydalone do moczu zdrowych osób w minimalnych ilościach, wykazujące istotny wzrost w stanach patologicznych, nieulegające denaturacji w kwaśnym pH moczu, zlokalizowane w określonych komórkach i strukturach subkomórkowych nerek⁽¹²⁾.

Aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych stanowi obecnie powszechny przedmiot badań, co wiąże się z ich wielorakimi funkcjami i obecnością w tkankach oraz płynach ustrojowych⁽¹³⁻¹⁷⁾. Najaktywniejszą i najlepiej poznaną egzoglikozydazą lizosomalną jest HEX^(8,18,19). FUC, GAL, GLU i MAN są słabiej poznane i wymagają wnikliwych badań nad przydatnością oznaczania ich aktywności w tkankach i płynach ustrojowych. Dotychczas opublikowane prace sugerują, że przydatne może być oznaczanie aktywności egzoglikozydaz

lizosomalnych w moczu. Egzoglikozydazy lizosomalne należą do nielicznych enzymów, których aktywność można oznaczyć w moczu^(11,20). Oznaczanie ich aktywności w moczu może być pomocne w rozpoznaniu zwężenia miedniczkowo-moczowodowego z uszkodzonymi kanalikami nerkowymi u dzieci⁽²¹⁾, jednej czynnej nerki⁽²²⁾, cukrzycy typu 1⁽²³⁾ czy raka tarczycy, nerki, jelita grubego i gruczołakoraka trzustki^(15,16,24–27), a także nadużywania alkoholu⁽²⁸⁾ u osób dorosłych. Istotny wzrost aktywności HEX w moczu ma miejsce w ostrym i przewlekłym kłębuszkowym zapaleniu nerek⁽²⁹⁾, mocznicy⁽³⁰⁾, odpływie pęcherzowo-moczowodowym⁽³¹⁾, przewlekłym odmiedniczkowym zapaleniu nerek⁽³²⁾, zespole nerczykowym⁽³³⁾, uszkodzeniu cewek nerkowych u dzieci ze zwężeniem podmiedniczkowym moczowodu⁽²¹⁾ oraz u dzieci z jedyną nerką⁽²²⁾, po urazach i przeszczepach nerek⁽³⁴⁾. Warto zauważyć, że aktywność HEX w moczu dzieci we wczesnym stadium nefropatii cukrzycowej jest 2-krotnie wyższa w porównaniu z aktywnością moczowej HEX u dzieci zdrowych⁽³⁵⁾. Liubimova i wsp. stwierdzili, że HEX jest czulszym markerem uszkodzenia cewek nerkowych przez leki cytostaticzne niż mocznik i wskaźnik albuminowo-kreatyninowy^(36,37). Pomiar aktywności HEX w moczu może być pomocny w ocenie efektów terapii choroby alkoholowej⁽³⁸⁾. Podwyższoną aktywność HEX w moczu obserwuje się także u palaczy tytoniu, co może wskazywać na istnienie mikrourazów w cewkach nerkowych⁽³⁹⁾. Ponadto zwiększenie aktywności HEX w moczu jest wczesnym wskaźnikiem odrzucenia przeszczepu nerki⁽⁴⁰⁾. Ze względu na dużą masę cząsteczkową enzymy lizosomalne nie podlegają filtracji przez prawidłowo funkcjonującą błonę filtracyjną kanalików nerkowych. Zwiększona aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu nie pochodzi z krwi, lecz z uszkodzonych komórek cewek nerkowych. W fizjologicznym moczu wykrywalne są śladowe aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych^(15,16,21,22,24,25), co jest wywołane naturalnym złuszczeniem nabłonka cewek nerkowych lub uwalnianiem egzoglikozydaz do moczu z komórek kanalików nerkowych⁽⁴¹⁾.

EGZGLIKOZYDAZY LIZOSOMALNE W MOCZU ZDROWYCH DZIECI I MŁODZIEŻY

Jedną z nieinwazyjnych metod oceny funkcji nerek u dzieci i młodzieży stanowi oznaczanie aktywności enzymów wytwarzanych w nerkach i wydalanych do moczu. Znaczenie diagnostyczne mają tylko te enzymy, które nie ulegają denaturacji w kwaśnym pH moczu i są wydalane w minimalnych ilościach do moczu osób zdrowych, a ich wydzielanie znamienne wzrasta w stanach patologicznych⁽¹⁹⁾. Enzymami spełniającymi powyższe warunki są: HEX, wykazująca największą aktywność w cewkach proksymalnych nerek^(19,24,27), jej izoenzymy HEX A i HEX B, z wyraźną przewagą aktywności HEX A, która jest największa w rdzeniu i korze nerek^(16,19), oraz FUC, GAL, GLU i MAN, obecne w niewielkich ilościach w moczu osób zdrowych^(21,22,25). W publikacjach omawiających wpływ chorób na aktywność

egzoglikozydaz lizosomalnych: HEX, HEX A, HEX B, FUC, GAL, GLU i MAN zamieszczono wartości referencyjne, stanowiące punkt odniesienia dla uzyskanych wyników badań^(21,22,24–27). Brak jest natomiast badań poświęconych wartościom prawidłowym aktywności HEX, HEX A, HEX B oraz FUC, GAL, GLU i MAN w moczu dzieci i młodzieży oraz u zdrowych osób dorosłych. Dlatego w badaniach własnych przeprowadzonych w grupie 230 zdrowych dzieci i młodzieży autorzy postanowili ocenić zmiany w aktywności HEX i jej izoenzymów HEX A i HEX B w moczu⁽⁴²⁾. Dzieląc dzieci i młodzież na 6 grup wiekowych w odstępach co 3 lata, wykazano istotne statystycznie różnice ($p < 0,05$) w aktywności HEX i jej izoenzymów (pKat/ μ g Cr) w moczu najmłodszych dzieci (0,5–2,9 roku) w porównaniu z nastolatkami (15,0–17,9 roku). Stwierdzono odwrotną korelację między wiekiem a aktywnością w moczu HEX i jej izoenzymów w przeliczeniu na kreatyninę: HEX: $r = -0,24$, $p < 0,001$; HEX A: $r = -0,20$, $p < 0,01$ i HEX B: $r = -0,26$, $p < 0,001$ ⁽⁴²⁾. Uzyskane wyniki są częściowo zgodne z badaniami Agirbasliego i wsp.⁽⁴³⁾, którzy wykazali, że aktywność HEX w moczu młodych osób (18–32 lat) zależy od wieku, płci, wysiłku i ciśnienia tętniczego. Przeglądając dostępną literaturę, autorzy natrafili na badania pokazujące związek między aktywnością HEX w moczu a wiekiem zdrowych dzieci i młodzieży^(44,45). Ujemną korelację aktywności moczowej HEX, HEX A i HEX B (pKat/ μ g Cr) w stosunku do wieku autorzy odnotowali również w badaniu dzieci i młodzieży z jedną czynną nerką i wodonerczem^(21,22). Autorzy wykazali⁽⁴⁶⁾, że aktywności FUC, GAL, GLU i MAN w moczu 203 dzieci i młodzieży, podobnie jak w przypadku HEX i jej izoenzymów⁽⁴²⁾, są niezależne od płci, zależą natomiast od wieku i są istotnie statystycznie wyższe ($p < 0,001$) (pKat/ μ g Cr) w moczu najmłodszych dzieci (0,5–2,9 roku) w porównaniu z nastolatkami (15,0–17,9 roku). Ponadto autorzy wykazali ujemną korelację między wiekiem badanych dzieci i młodzieży a aktywnością w moczu (pKat/ μ g Cr): FUC ($r = -0,36$, $p < 0,0001$); GAL ($r = -0,36$, $p < 0,0001$); GLU ($r = -0,35$, $p < 0,0001$) i MAN ($r = -0,35$, $p < 0,0001$)⁽⁴⁶⁾. Badanie autorów niniejszej pracy jest pierwszą tak dużą analizą dotyczącą referencyjnych wartości dla aktywności HEX, jej izoenzymów HEX A i HEX B oraz FUC, GAL, GLU i MAN w moczu zdrowych dzieci i młodzieży^(42,46). Zależność aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu dzieci i młodzieży od wieku oraz siatki centylowej w zakresie wartości prawidłowych 3., 10., 25., 50., 75., 90. i 97. centyla może mieć znaczenie praktyczne w odróżnieniu zdrowych dzieci i młodzieży od chorych^(42,46).

EGZGLIKOZYDAZY LIZOSOMALNE W MOCZU DZIECI I MŁODZIEŻY Z NADCIŚNIENIEM TĘTNICZYM

W ostatnich latach pojawiła się nowa koncepcja wyjaśnienia patogenezy nadciśnienia tętniczego. Początkowo uważano, że wewnątrznaczyniowy proces zapalny jest

następstwem podwyższonych wartości ciśnienia, jednak badania ostatnich lat wskazują na istotną rolę przewlekłego procesu zapalnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego. Procesy zapalne wiążą się ze wzrostem (w tkankach i płynach ustrojowych) stężenia wielu białek, w tym m.in.: cząsteczek adhezyjnych, cytokin, białek ostrej fazy⁽⁴⁷⁾, a także enzymów lizosomalnych, a wśród nich egzoglikozydaz lizosomalnych: HEX, jej izoenzymów HEX A i HEX B, FUC, GAL, GLU oraz MAN^(13–16,25,27,48).

Przyjmuje się, że początek nadciśnienia tętniczego coraz częściej ma miejsce w dzieciństwie. Dlatego zasadna wydaje się hipoteza, że zmiany aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych są możliwe na wczesnym etapie życia i mogą być dowodem wczesnego pojawienia się stanu przednadcisnieniowego. Wiadomo, że glikokoniugaty (glikoproteiny, glikolipidy, proteoglikany) odgrywają istotną rolę w strukturze i funkcjonowaniu śródbłonna, mięśni gładkich i macierzy pozakomórkowej⁽²¹⁾, natomiast wiedza na temat roli egzoglikozydaz lizosomalnych w śródbłonnku i ścianach tętnic jest nadal niewystarczająca^(49,50). Hermelin i wsp.⁽⁴⁹⁾ wskazują na istotne obniżenie aktywności HEX i GLU we frakcji lizosomalnej kompleksu *intima-media* tętnic starych szczurów w porównaniu z młodymi, co wskazuje na zależne od wieku spowolnienie metabolizmu glikokoniugatów w wewnętrznych błonach tętnic. Z kolei Markle⁽⁵⁰⁾, badając aktywności HEX, GAL, GLU i MAN w tkankach aorty szczurów, stwierdził ich wzrost zależny od wielkości i wieku szczurów. W dostępnej literaturze brak jest informacji mówiących o zależnościach między aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu a ciśnieniem tętniczym u dzieci i młodzieży. W związku z tym, badając 176 dzieci i młodzieży w wieku poniżej 18 lat, autorzy postanowili przeanalizować aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych: HEX, jej izoenzymów HEX A i HEX B oraz FUC, GAL, GLU i MAN w moczu w odniesieniu do wieku oraz ciśnienia skurczowego i rozkurczowego⁽⁵¹⁾. W swoim badaniu autorzy wykazali związek między aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu a prawidłowym i podwyższonym ciśnieniem tętniczym u zdrowych dzieci i młodzieży. Dzieci i młodzież z prawidłowym oraz podwyższonym ciśnieniem tętniczym różniły się między sobą pod względem ciśnienia skurczowego i rozkurczowego ($p < 0,001$). Masa ciała i wskaźnik masy ciała (*body mass index*, BMI) również były znacząco niższe w grupie zdrowych dzieci i młodzieży z prawidłowym ciśnieniem tętniczym ($p < 0,05$). Uważa się, że nadmierna masa ciała koreluje ze zwiększonym ciśnieniem, powodując hiperfiltrację kłębuszków i uszkodzenie nerek. Girişgen i wsp.⁽⁵²⁾ nie znaleźli istotnej korelacji między aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu a BMI. Wyniki tych badaczy są spójne z wynikami autorów niniejszej pracy⁽⁵¹⁾. U wszystkich badanych dzieci i młodzieży autorzy stwierdzili istotną dodatnią korelację między aktywnością HEX ($r = 0,17$, $p < 0,05$) i jej izoenzymu HEX A ($r = 0,21$, $p < 0,05$) w moczu (pKat/ml) a skurczowym ciśnieniem

tętniczym. Znaleźli też statystycznie istotnie ujemne korelacje między aktywnością FUC ($r = -0,16$, $p < 0,05$) i GAL ($r = -0,17$, $p < 0,05$) w moczu (pKat/ μ g Cr) a ciśnieniem skurczowym, jak również ujemną korelację między aktywnością GAL ($r = -0,16$, $p < 0,05$) w moczu (pKat/ μ g Cr) a rozkurczowym ciśnieniem tętniczym. Dodatkowo zaobserwowali tendencję do korelacji (na granicy istotności statystycznej) między aktywnością GLU (pKat/ml) i MAN (pKat/ μ g Cr) a ciśnieniem skurczowym⁽⁵¹⁾. Spośród wszystkich oznaczonych przez autorów egzoglikozydaz lizosomalnych tylko aktywność HEX A w moczu, wyrażona w pKat/ml, była istotnie różna u zdrowych dzieci i młodzieży z prawidłowym ciśnieniem tętniczym w porównaniu z dziećmi i młodzieżą z podwyższonym ciśnieniem ($p < 0,05$)⁽⁵¹⁾. Związek HEX z ciśnieniem tętniczym wykazano w badaniach klinicznych wśród dorosłych, jednak uzyskane wyniki są nadal niesatysfakcjonujące. W badaniu przeprowadzonym w grupie 84 pacjentów z nieskomplikowanym samoistnym nadciśnieniem tętniczym aktywność HEX w moczu wykazywała tendencję do wzrostu u pacjentów z nadciśnieniem w odniesieniu do pacjentów z prawidłowym ciśnieniem tętniczym⁽⁵³⁾. Alderman i wsp.⁽⁵⁴⁾ wskazują, że oznaczanie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu pacjentów z nadciśnieniem może mieć zastosowanie jako marker uszkodzenia nerek. W innym badaniu⁽⁵⁵⁾ zasugerowano, że aktywność HEX w moczu może być niezależnym markerem mającym zastosowanie w diagnostyce wczesnej niewydolności nerek u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Porównując wyniki oznaczeń aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu u chłopców i dziewcząt, autorzy niniejszej pracy stwierdzili istotną dodatnią korelację między aktywnością HEX A (pKat/ml i pKat/ μ g Cr) a skurczowym ciśnieniem tętniczym u chłopców oraz istotną dodatnią korelację między aktywnością HEX, HEX B, FUC, GAL, GLU i MAN (pKat/ml) a ciśnieniem skurczowym u dziewcząt ($p < 0,05$)⁽⁵¹⁾. W badaniu Schmiedera i wsp.⁽⁵³⁾, obejmującym pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, wysoka aktywność HEX w surowicy była związana ze wzrostem ciśnienia skurczowego. Autorzy niniejszej pracy stwierdzili u dzieci i młodzieży z prawidłowym ciśnieniem tętniczym istotną ujemną korelację między aktywnością FUC i GAL w moczu (pKat/ μ g Cr) a ciśnieniem skurczowym ($p < 0,05$) oraz aktywnością HEX, HEX A, FUC, GAL, GLU i MAN (pKat/ μ g Cr) a ciśnieniem rozkurczowym ($p < 0,05$)⁽⁵¹⁾. Natomiast De Muro i wsp.⁽⁵⁶⁾ odnotowali istotny związek między aktywnością HEX a obecnością nadciśnienia tętniczego u chorych na cukrzycę. Istnieją publikacje, których autorzy nie stwierdzili żadnych różnic w aktywności HEX w moczu i surowicy pacjentów z łagodnym nadciśnieniem tętniczym i młodzieńczym nadciśnieniem granicznym w porównaniu z grupami kontrolnymi^(57,58). Rozbieżności w opublikowanych wynikach badań sprawiają, że konieczne są dalsze prace nad aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu i surowicy dzieci i młodzieży z łagodnym nadciśnieniem tętniczym i młodzieńczym

nadciśnieniem granicznym. Zgodnie z najlepszą wiedzą autorów niniejszej pracy ich badanie⁽⁵¹⁾ jest pierwszą próbą oceny korelacji między aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych: HEX, HEX A, HEX B, FUC, GAL, GLU i MAN w moczu z wartościami ciśnienia tętniczego u zdrowych dzieci i osób młodych z ciśnieniem prawidłowym i podwyższonym. Przeprowadzone obserwacje⁽⁵¹⁾ sugerują, że HEX A (pKat/ml) można uznać za przydatne narzędzie do identyfikacji dzieci i młodzieży z podwyższonym ciśnieniem tętniczym. Poparcie powyższego stwierdzenia stanowi analiza ROC (*receiver operating characteristic*), która wskazuje na dość dobrą wartość diagnostyczną oznaczenia aktywności HEX A w moczu wyrażonej w pKat/ml (pole pod krzywą, *area under curve*, AUC = 0,616), z czułością 51,2% i specyficznością 71,8%, oraz słabszą w przeliczeniu na kreatyninę (pKat/ μ g Cr), gdzie AUC = 0,589, czułość 31,7%, a specyficzność 86,3%. Należy podkreślić fakt, że aktywności HEX i izoenzymu HEX A w moczu wyrażone w pKat/ml dodatnio korelują ze skurczowym ciśnieniem tętniczym⁽⁵¹⁾.

EGZOGLIKOZYDAZY LIZOSOMALNE W MOCZU JAKO WSKAŹNIK UPOŚLEDZONEJ FUNKCJI CEWEK NERKOWYCH U DZIECI ZE ZWĘŻENIEM PODMIEDNICZKOWYM MOCZOWODU

W ostatnich kilku dziesięcioleciach dokonał się istotny postęp w zakresie wiedzy dotyczącej patofizjologii zwężenia podmiędniczki moczowodu z wykorzystaniem badań na zwierzętach^(59,60). Niezależnie od przyczyny wywołującej, następstwem zwężenia moczowodu jest utrudniony odpływ lub brak odpływu moczu z nerki. Początkowo miedniczka jest w stanie pokonywać przeszkodę dzięki zwiększeniu siły skurczów, czego wyrazem jest znaczący wzrost ciśnienia w układzie kielichowo-miedniczkowym. Jednak dalsze utrzymywanie się przeszkody powoduje dekompensację miedniczki, czego efektem są wodonercze i postępujące uszkodzenie miąższu nerkowego. Dochodzi wówczas do szeregu zmian na poziomie komórkowym: apoptozy, transformacji mezenchymalno-miocytowej, co manifestuje się postępującym upośledzeniem i uszkodzeniem kłębuszków i cewek nerkowych⁽⁶¹⁾. W wyniku zachodzących procesów następuje uwalnianie różnorodnych i wieloczynnikowych wskaźników biochemicznych, spośród których duże zainteresowanie budzi znana N-acetylo- β -D-heksozoaminidaza. Wiedza uzyskana w wyniku badań na zwierzętach pozwoliła na odkrycie nowych, potencjalnie przydatnych diagnostycznie i prognostycznie biomarkerów, możliwych do oznaczenia w moczu, z których żaden dotychczas nie został w pełni wdrożony w praktyce klinicznej⁽⁶²⁾. Nadal prowadzone są badania mające na celu znalezienie odpowiednio czułych i nieinwazyjnych biomarkerów enzymatycznych, pozwalających na ocenę funkcji cewek nerkowych⁽¹⁹⁾. Większość patologicznych zmian

w nerkach dotyczy kłębuszków, kanalików proksymalnych i dystalnych oraz śródbłonna naczyń. Zwiększona aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych sugeruje uszkodzenie komórek, ale może również odzwierciedlać zwiększoną aktywność lizosomalną bez zaburzeń komórkowych⁽⁶³⁾. Zgodnie z wiedzą autorów istnieje kilka prac, w których badano rolę HEX u dzieci z jednostronnym zwężeniem podmiędniczki moczowodu. W żadnym z tych opracowań nie podjęto próby oceny profilu aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu jako biomarkerów zwężenia podmiędniczki moczowodu. W badaniu autorzy stwierdzili, że aktywności ocenianych w moczu egzoglikozydaz lizosomalnych były znacznie wyższe u dzieci ze zwężeniem podmiędniczki moczowodu niż u dzieci zdrowych⁽²¹⁾. Prowadzone badania potwierdzają znaczenie diagnostyczne oznaczenia aktywności HEX w moczu jako markera uszkodzenia kłębuszków nerkowych w przebiegu wielotorbielowości nerek i cukrzycy^(64,65). Skalova i wsp.⁽⁶⁶⁾ stwierdzili istotnie wyższą aktywność HEX w moczu dzieci z wodonerczem w cukrzycy w porównaniu z grupą kontrolną. W innym badaniu stwierdzono, że aktywność HEX w moczu, a w szczególności HEX B, może być swoistym markerem uszkodzenia kanalików proksymalnych w nerkach po transplantacji⁽⁶⁷⁾. Taha i wsp.⁽⁶⁸⁾ zauważyli, że aktywność HEX w moczu może być nieinwazyjnym narzędziem przydatnym do obserwacji dzieci z rozpoznaniem zwężeniem podmiędniczki moczowodu. Badanie autorów⁽²¹⁾ pokazuje, że najwyższe aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu, wyrażone w pKat/ μ g Cr, występują przed zabiegiem chirurgicznym (wycięcia zwężonego odcinka miedniczkowo-moczowodowego moczowodu i ponownego, szerokiego zespolenia moczowodu z miedniczką) i ulegają znacznemu obniżeniu po operacji. Aktywność wszystkich egzoglikozydaz lizosomalnych, wyrażona w pKat/ μ g Cr, uległa obniżeniu po zabiegu chirurgicznym, ale wciąż była istotnie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną⁽²¹⁾, co mogło być spowodowane rozciągnięciem moczu, wynikającym z działania obu nerek, oraz trwającą regeneracją nerki. Badanie aktywności HEX w moczu jako enzymu określającego jakość kanalików nerkowych okazało się przydatne w ocenie stanu zdrowia dzieci ze zwężeniem podmiędniczki moczowodu leczonych zachowawczo; w odniesieniu do tej grupy stwierdzono, że HEX może być biomarkerem pozwalającym na określenie stopnia ryzyka rozwoju zwężenia podmiędniczki moczowodu⁽⁶⁹⁾. W badaniu własnym autorzy odnotowali ujemną korelację między aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych, wyrażoną w pKat/ μ g Cr, a wiekiem pacjentów i stężeniem kreatyniny w surowicy krwi. Warto zauważyć, że aktywności wszystkich badanych przez autorów egzoglikozydaz lizosomalnych z wyjątkiem HEX A, wyrażone w pKat/ μ g Cr, korelowały dodatnio ze wskaźnikiem albuminowo-kreatyninowym w moczu⁽²¹⁾. Rustom i wsp.⁽⁷⁰⁾ stwierdzili silną korelację między białkomoczem a aktywnością HEX u pacjentów

z kłębuszkowym zapaleniem nerek, nefropatią z nadciśnieniem tętniczym i przewlekłym odmiedniczkowym zapaleniem nerek. W innej pracy odnotowano dodatnią korelację między stężeniem transformującego czynnika wzrostu beta 1 (*transforming growth factor β 1*, TGF- β 1) i białkomoczem w nefropatii zastoinowej⁽⁷¹⁾. Brak korelacji aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu z wartościami współczynnika filtracji kłębuszkowej w badaniu własnym można wyjaśnić tym, że wszystkie dzieci cechowały się prawidłową czynnością nerek. Co ciekawe, nie stwierdzono korelacji między aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu a funkcją nerek ocenioną w badaniu scyntygraficznym. Sugeruje to współistnienie czynników innych niż choroba zasadnicza, które mogą wpływać na aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych. Egzoglikozydazy lizosomalne mogą stanowić panel umożliwiający zdiagnozowanie zwężenia podmiędniczkiowego moczowodu, co potwierdza analiza ROC, wskazująca na dobrą wartość diagnostyczną oznaczanych egzoglikozydaz lizosomalnych w identyfikacji wodonercza wśród wszystkich badanych dzieci (AUC > 0,8). Ponadto wyniki autorów sugerują całkiem dobrą wartość diagnostyczną oznaczenia aktywności HEX B, FUC, GAL, GLU i MAN w moczu dzieci z wczesnymi oznakami uszkodzenia nerek przez zwężenie podmiędniczkiowego moczowodu (AUC > 0,7)⁽²¹⁾. Uzyskane rezultaty wskazują na niezwykle wysoką aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu pacjentów z potwierdzonym w badaniu scyntygraficznym zwężeniem podmiędniczkiowym, co może sugerować istnienie funkcjonalnych zmian w nerkach tych osób.

EGZOGLIKOZYDAZY LIZOSOMALNE W MOCZU JAKO WSKAŹNIK USZKODZENIA CEWEK NERKOWYCH U DZIECI I MŁODZIEŻY Z WRODZONYM LUB NABYTYM BRAKIEM NERKI

Dane z literatury przedmiotu pokazują, że we wczesnym stadium przewlekłej choroby nerek filtracja kłębuszkowa najczęściej nie ulega zmianie. Wraz z rozwojem choroby funkcjonowanie nerek się pogarsza i u osób z prawidłową filtracją kłębuszkową może mieć miejsce hiperfiltracja⁽⁷²⁾. W badaniu własnym⁽²²⁾ hiperfiltrację stwierdzono tylko u 2 pacjentów. Warto jednak zauważyć, że wiek uczestników badania wahał się w zakresie od 2 miesięcy do 18 lat, przy czym 30 z 52 dzieci miało albuminurię. Wskaźnik albuminowo-kreatyninowy w moczu był istotnie wyższy w grupie dzieci z jedną nerką w porównaniu z dziećmi z dwiema prawidłowo funkcjonującymi nerkami. Wyniki analizy sugerują, że u dzieci z jedną nerką obecne jest uszkodzenie kanalików, co potwierdza podwyższona aktywność wszystkich badanych enzymów lizosomalnych w moczu. Zdaniem Thomsona i wsp.⁽⁷³⁾ przerost proksymalnych kanalików nerkowych może być spowodowany aktywacją układu renina-angiotensyna-aldosteron oraz

hiperfiltracją kłębuszków, istnieje bowiem zależność między kłębuszkową hiperfiltracją a wielkością nerki u pacjentów z jedną nerką. Zwiększone stężenie angiotensyny II może prowadzić do hiperfiltracji kłębuszków, stanu zapalnego, uszkodzenia i zwłóknienia tkanki nerkowej. Długoterminowe konsekwencje podwyższonego stężenia angiotensyny II obejmują białkomocz, nadciśnienie tętnicze i spadek filtracji kłębuszkowej. Przyjmuje się, że albuminuria to w przeważającym stopniu hemodynamiczny efekt nadciśnienia kłębuszkowego i hiperfiltracji⁽⁷⁴⁾. U znacznej części pacjentów z wrodzonym brakiem nerki rozwija się albuminuria, którą można interpretować jako objaw hiperfiltracji. U osób z wrodzonym brakiem jednej nerki i związanym z tym zwiększonym wydalaniem albumin w moczu przez drugą nerkę rośnie ryzyko wystąpienia niewydolności nerki. Białkomocz może odgrywać rolę patogenną, przyczyniając się do uszkodzenia kanalikowo-śródmiaższowego. Istnieją różne teorie dotyczące potencjalnych mechanizmów uszkodzenia komórek kanalików nerkowych, związanych z białkomoczem. Nadmierna reabsorpcja białka przez proksymalne kanaliiki nerkowe może prowadzić do ich uszkodzenia i apoptotycznej śmierci komórki w wyniku wyczerpania szlaku degradacji lizosomalnej i wyciekania enzymów lizosomalnych do cytoplazmy. Jeszcze kilka lat temu przyjmowano, że oznaczenie aktywności HEX i jej izoenzymów może być przydatne w rozpoznaniu choroby Taya-Sachs⁽⁷⁵⁾. Ostatnio opublikowane badania pokazują, że HEX i jej izoenzym HEX B mogą być markerami uszkodzenia komórki⁽⁷⁶⁾ i mogą mieć zastosowanie w identyfikacji uszkodzenia nerek⁽⁶³⁾. Wyniki autorów⁽²²⁾ potwierdzają hipotezę, że uszkodzenie kanalików nerkowych może stanowić ważny powód uszkodzenia jednej nerki. Warto wspomnieć, że istnieje bardzo silna korelacja między wskaźnikiem albuminowo-kreatyninowym a aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu, wyrażoną w pKat/ μ g Cr. Pacjenci z białkomoczem kanalikowym w ostrym stadium choroby nerek cechują się istotnym wzrostem moczowej aktywności HEX, podczas gdy u pacjentów z przewlekłą dysfunkcją kanalików nie stwierdzono istotnego wzrostu aktywności HEX w moczu⁽⁷⁷⁾. Badanie autorów⁽²²⁾ sugeruje, że aktywności HEX i jej izoenzymów A i B w moczu mogą stanowić przydatne wskaźniki uszkodzenia nerek u pacjentów z jedną nerką. Ta hipoteza powinna być potwierdzona w dalszych badaniach, ponieważ podwyższona aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu może być wynikiem nie tylko uszkodzenia kanalików proksymalnych, ale również zwiększonej aktywności egzoglikozydaz w nieuszkodzonych lizosomach⁽⁷⁸⁾. Inne zbadane przez autorów markery: α -fukozydaza (FUC), β -galaktozydaza (GAL), β -glukuronidaza (GLU) i α -mannozydaza (MAN) odgrywają kluczową rolę w wykryciu kancerogenezy^(15,16,24,27). Uzyskane wyniki wskazują na wyższą aktywność FUC, GAL, GLU i MAN w moczu dzieci z wrodzonym i nabytym brakiem nerki w porównaniu z dziećmi zdrowymi

z dwiema prawidłowo funkcjonującymi nerkami⁽²²⁾. Dodatkowym interesującym odkryciem autorów była ujemna korelacja między aktywnością egzoglikozydaz lizosomalnych (pKat/ μ g Cr) w moczu pacjentów z wrodzonym brakiem jednej nerki a wiekiem pacjenta. Jest to zgodne z obserwacjami Wikstad i wsp.⁽⁷⁹⁾ oraz Baudoina i wsp.⁽⁸⁰⁾, którzy zauważyli powyższą zależność u dorosłych z jedną nerką. Ocena aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu jest szczególnie cenna w monitorowaniu przebiegu chorób przewlekłych, tym bardziej że mocz można uzyskać w sposób nieinwazyjny. Opublikowane spostrzeżenia pozwalają na stwierdzenie, że aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu w przeliczeniu na kreatyninę można uznać za potencjalnie przydatne, nieinwazyjne markery uszkodzenia nerek u pacjentów z jedną nerką. Potwierdzeniem powyższej tezy jest przeprowadzona przez autorów analiza ROC, która wskazuje, że u dzieci z jedną nerką, ze stwierdzoną albuminurią, wszystkie oznaczane egzoglikozydazy lizosomalne mają dobrą wartość diagnostyczną. Z badań własnych wynika, że wzrost aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu poprzedza wystąpienie objawów klinicznych chorób nerek i jest bardziej czułym markerem diagnostycznym niż albuminuria⁽²²⁾.

PODSUMOWANIE

Egzoglikozydazy lizosomalne: N-acetylo- β -D-heksozaminidaza (HEX), jej izoenzymy A (HEX A) i B (HEX B), α -fukozydaza (FUC), β -galaktozydaza (GAL), β -glukuronidaza (GLU) i α -mannozydaza (MAN) są enzymami lizosomalnymi biorącymi udział w katabolizmie łańcuchów oligosacharydowych glikokoniugatów: glikoprotein, proteoglikanów i glikolipidów. Ze względu na trwałość w kwaśnym środowisku moczu egzoglikozydazy lizosomalne znajdują zastosowanie diagnostyczne jako tanie i łatwe w oznaczeniu markery oceny czynności nerek. W moczu zdrowych dzieci i młodzieży oraz dorosłych stwierdza się niewielkie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych. Aktywność egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu zależy od stopnia uszkodzenia nerek. Zwiększoną aktywność obserwuje się u dzieci i młodzieży ze zwężeniem podmiędniczki moczowodu oraz z wrodzonym lub nabytym brakiem nerki. Zwiększone aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych uczestniczą przypuszczalnie w procesach związanych z rozwojem nadciśnienia tętniczego. Niniejszą publikację można zakończyć wnioskiem, że profil aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w moczu może być czułym markerem mającym zastosowanie w diagnostyce uszkodzenia nerek.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo

1. Kędziora-Kornatowska K, Błażejewska A: Udział nerek w zaburzeniach endokrynnych u osób w podeszłym wieku. *Gerontol Pol* 2005; 13: 218–221.
2. Szymański M, Korzeniowska K, Jabłeczka A: Nerkowe działania niepożądane związane ze stosowaniem NLPZ. *Geriatrics* 2014; 8: 170–178.
3. Wójcik S, Sułowicz W: Rola nerek w patogenezie nadciśnienia tętniczego. *Przegl Lek* 2012; 69: 680–686.
4. Napiórkowska L, Franek E: Rola oznaczania witaminy D w praktyce klinicznej. *Chor Serca Naczyn* 2009; 6: 203–210.
5. Jankowski M: Rola nerek w regulacji gospodarki wodnej ustroju. *Forum Nefrol* 2012; 5: 60–67.
6. Levin ER, Gardner DG, Samson WK: Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998; 339: 321–328.
7. Dobrek Ł, Thor PJ: Wybrane białka jako biomarkery uszkodzenia nerek wykorzystywane w diagnostyce nefrologicznej. *Postepy Biochem* 2016; 62: 482–494.
8. Winchester B: Lysosomal metabolism of glycoproteins. *Glycobiology* 2005; 15: 1R–15R.
9. Zwierz K, Gindziński A, Ostrowska L et al.: Metabolism of glycoconjugates in human gastric mucosa – a review. *Acta Med Hung* 1989; 46: 275–288.
10. Szajda SD, Kępka A, Waszkiewicz N et al.: Beta-heksozaminidaza w diagnostyce chorób wątroby. *Med Sci Rev Hepatol* 2008; 8: 36–42.
11. Abirami K, Tiwari SC: Urinalysis in clinical practice. *J Indian Acad Clin Med* 2001; 2: 39–50.
12. Marchewka Z, Szymańska B, Szymanek-Pasternak A et al.: Przydatność oznaczania aktywności wybranych enzymów w moczu w ocenie uszkodzenia funkcji nerek u pacjentów zakażonych HIV poddanych terapii antyretrowirusowej. *Diagn Lab* 2014; 50: 227–234.
13. Pancewicz S, Popko J, Rutkowski R et al.: Activity of lysosomal exoglycosidases in serum and synovial fluid in patients with chronic Lyme and rheumatoid arthritis. *Scand J Infect Dis* 2009; 41: 584–589.
14. Waszkiewicz N, Chojnowska S, Zalewska A et al.: Salivary exoglycosidases as markers of alcohol dependence. *Alcohol Alcohol* 2014; 49: 409–416.
15. Szajda SD, Snarska J, Puchalski Z et al.: Lysosomal exoglycosidases in serum and urine of patients with colon adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 921–925.
16. Szajda SD, Snarska J, Jankowska A et al.: Isoenzymes A and B of N-acetyl-beta-D-hexosaminidase in serum and urine of patients with pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 695–698.
17. Beratis NG, Mavrommatis T, Hatiris I et al.: Increased activity of lysosomal acid hydrolases in the cell-free cerebrospinal fluid of bacterial meningitis. *Pediatr Res* 1997; 41: 235–241.
18. Zwierz K, Zalewska A, Zoch-Zwierz W: Isoenzymes of N-acetyl-beta-hexosaminidase. *Acta Biochim Pol* 1999; 46: 739–751.
19. Kępka A, Szajda SD, Jankowska A et al.: N-acetylo-beta-heksozaminidaza – marker uszkodzenia cewek nerkowych bliższych. *Pol Merkur Lek* 2008; 24: 288–290.
20. Kiliś-Pietrusińska K, Zwolińska D: Enzymuria a zakażenia układu moczowego. *Pol Merkur Lek* 1999; 6: 194–196.
21. Taranta-Janusz K, Zalewska-Szajda B, Chojnowska S et al.: Urine exoglycosidases are potential markers of renal tubular injury in children with ureteropelvic junction obstruction. *Acta Paediatr* 2015; 104: e518–e523.
22. Taranta-Janusz K, Zalewska-Szajda B, Gościak E et al.: New tubular injury markers in children with a solitary functioning kidney. *Pediatr Nephrol* 2014; 29: 1599–1605.
23. Zalewska-Szajda B, Szajda SD, Waszkiewicz N et al.: Aktywność N-acetylo-beta-D-heksozaminidazy w ślinie dzieci z cukrzycą typu 1. *Postepy Hig Med Dosw* 2013; 67: 996–999.
24. Szajda SD, Borzym-Kluczyk M, Snarska J et al.: 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.

25. Szajda SD, Waszkiewicz N, Stypułkowska A et al.: Lysosomal exoglycosidases in serum and urine of patients with pancreatic adenocarcinoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2010; 48: 351–357.
26. Zwierz P, Szajda SD, Snarska J et al.: [Concentration of thyroid stimulating hormone and activity of N-acetyl-beta-D-hexosaminidase and its isoenzymes, in serum of patients with thyroid cancer]. *Pol Merkur Lek* 2006; 21: 439–442.
27. Borzym-Kluczyk M, Darewicz B, Knaś M et al.: The activity of N-acetyl-beta-glucosaminidase and its isoenzymes in the renal tissue, serum and urine of patients with renal cancer. *Współcz Onkol* 2005; 9: 287–290.
28. Waszkiewicz N, Popławska R, Konarzewska B et al.: Biomarkery nadużywania alkoholu. Część II. Nowe biomarkery oraz ich interpretacja. *Psychiatr Pol* 2010; 44: 137–146.
29. Dance N, Price RG, Cattell WR et al.: The excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase and beta-galactosidase by patients with renal disease. *Clin Chim Acta* 1970; 27: 87–92.
30. Linko-Löppönen S: Fluorometric measurement of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and its correlation to uremia. *Clin Chim Acta* 1986; 160: 123–127.
31. Kunin CM, Chesney RW, Craig WA et al.: Enzymuria as a marker of renal injury and disease: studies of N-acetyl-beta-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics* 1978; 62: 751–760.
32. Filutkiewicz J: Wzrost wydalania enzymów lizosomalnych i fosfatazy alkalicznej w moczu jako wyraz zaostrzenia przewlekłego odmiedniczkowego zapalenia nerek. *Pol Tyg Lek* 1979; 39: 1901–1904.
33. Ellis BG, Tucker SM, Thompson AE et al.: Presence of serum and tissue forms of N-acetyl-beta-glucosaminidase in urine from patients with renal disease. *Clin Chim Acta* 1975; 64: 195–202.
34. Bugge JF, Hartmann A, Osnes S et al.: Immediate and early renal function after living donor transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 389–393.
35. Romero R, Salinas I, Lucas A et al.: Renal function changes in microalbuminuric normotensive type II diabetic patients treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Diabetes Care* 1993; 16: 597–600.
36. Liubimova NV, Kumykova ZhKh, Kushlinskiĭ NE et al.: [Biochemical parameters in the diagnosis of nephrotoxicity of antineoplastic chemotherapy in children]. *Vopr Onkol* 1997; 43: 448–453.
37. Liubimova NV, Kumykova ZhKh, Kushlinskiĭ NE et al.: [The role of enzymuria in evaluation of the nephrotoxicity of antineoplastic chemotherapy in children]. *Biull Eksp Biol Med* 1997; 124: 446–450.
38. Taracha E, Habrat B, Chmielewska K et al.: [Use of urinary beta-hexosaminidase for diagnosing alcoholism in persons with opiate dependency in a methadone substitution program]. *Psychiatr Pol* 1999; 33: 215–223.
39. Hultberg B, Isaksson A, Brattström L et al.: Elevated urinary excretion of beta-hexosaminidase in smokers. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 131–133.
40. Hultberg B, Isaksson A, Sterner G et al.: Enzyme immunoassay of urinary beta-hexosaminidase isoenzymes in patients with renal transplants. *Clin Chim Acta* 1990; 192: 107–114.
41. Czartoryska B: Glikozydazy lizosomalne w katabolizmie heteropolisacharydów. *Post Bioch* 1977; 23: 229–266.
42. Zalewska-Szajda B, Taranta-Janusz K, Chojnowska S et al.: Pediatric reference data on activity of urinary N-acetyl-beta-D-hexosaminidase and its isoenzymes. *Adv Med Sci* 2018; 63: 94–99.
43. Agirbasli M, Radhakrishnamurthy B, Jiang X et al.: Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase changes in relation to age, sex, race, and diastolic and systolic blood pressure in a young adult biracial population. The Bogalusa heart study. *Am J Hypertens* 1996; 9: 157–161.
44. Nishida M, Kawakatsu H, Komatsu H et al.: Values for urinary beta 2-microglobulin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in normal healthy infants. *Acta Paediatr Jpn* 1998; 40: 424–426.
45. Skinner AM, Addison GM, Price DA: Changes in the urinary excretion of creatinine, albumin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase with increasing age and maturity in healthy schoolchildren. *Eur J Pediatr* 1996; 155: 596–602.
46. Zalewska-Szajda B, Taranta-Janusz K, Chojnowska S et al.: Urinary exoglycosidases, reference values in healthy children. *Adv Med Sci* 2018; 63: 224–229.
47. Baszczuk A, Kopczyński Z, Deręgowska P et al.: [Assessment of laboratory markers of inflammation in patients with primary hypertension]. *Nadciśn Tętn* 2011; 15: 251–257.
48. Popko J, Marciniak J, Zalewska A et al.: The activity of exoglycosidases in the synovial membrane and knee fluid of patients with rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis. *Scand J Rheumatol* 2006; 35: 189–192.
49. Hermelin B, Picard J: Lysosomal N-acetyl-beta-hexosaminidase and beta-glucuronidase activities from arterial wall. Variations with aging. *Gerontology* 1978; 24: 405–416.
50. Markle RA: Hydrolase activities increase in the rat aorta with growth and aging but not in liver and kidney. *Proc Soc Exp Biol Med* 1986; 183: 169–176.
51. Zalewska-Szajda B, Taranta-Janusz K, Chojnowska S et al.: Activity of lysosomal exoglycosidases in the urine of healthy normotensive and pre-hypertensive children. *Adv Med Sci* 2019; 64: 24–31.
52. Girişgen İ, Sönmez F, Yenisey Ç et al.: Urinary markers of renal damage in hypertensive children diagnosed with ambulatory blood pressure monitoring. *Turk J Pediatr* 2014; 56: 48–55.
53. Schmieder RE, Rockstroh JK, Münch HG et al.: Elevated serum activity of N-acetyl-beta-glucosaminidase in essential hypertension: diagnostic value and reversal to normal values after antihypertensive therapy. *Am J Kidney Dis* 1991; 18: 638–648.
54. Alderman MH, Melcher L, Drayer DE et al.: Increased excretion of urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. *N Engl J Med* 1983; 309: 1213–1217.
55. Lisowska-Myjak B, Krych A, Kołodziejczyk A et al.: Urinary proteins, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity and estimated glomerular filtration rate in hypertensive patients with normoalbuminuria and microalbuminuria. *Nephrology (Carlton)* 2011; 16: 403–409.
56. De Muro P, Lapedda AJ, Nieddu G et al.: Evaluation of early markers of nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Biochem Res Int* 2016; 2016: 7497614.
57. Narkiewicz K, Rynkiewicz A, Furmański J et al.: Increased urinary C-peptide and albumin excretion in juvenile borderline hypertensives. *Blood Press* 1993; 2: 272–277.
58. Persichetti S, Clemenzia G, Laterza G et al.: A comparison between the urinary and serum NAG activity in subjects with chronic nephropathies and essential arterial hypertension. *Minerva Med* 1990; 81: 265–270.
59. Decramer S, Bascands JL, Schanstra JP: Non-invasive markers of ureteropelvic junction obstruction. *World J Urol* 2007; 25: 457–465.
60. Trachtman H, Weiser AC, Valderrama E et al.: Prevention of renal fibrosis by spironolactone in mice with complete unilateral ureteral obstruction. *J Urol* 2004; 172: 1590–1594.
61. Chevalier RL, Thornhill BA, Chang AY et al.: Recovery from release of ureteral obstruction in the rat: relationship to nephrogenesis. *Kidney Int* 2002; 61: 2033–2043.
62. Taranta-Janusz K, Wasilewska A, Dębek W et al.: Urinary cytokine profiles in unilateral congenital hydronephrosis. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 2107–2113.
63. de Geus HR, Betjes MG, Bakker J: Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges. *Clin Kidney J* 2012; 5: 102–108.
64. Bazzi C, Petrini C, Rizza V et al.: Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1890–1896.
65. Park HC, Hwang JH, Kang AY et al.: Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase as a surrogate marker for renal function in

- autosomal dominant polycystic kidney disease: 1 year prospective cohort study. *BMC Nephrol* 2012; 13: 93.
66. Skalova S, Rejtar P, Kutilek S: Increased urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in children with hydronephrosis. *Int Braz J Urol* 2007; 33: 80–83; discussion 84–86.
 67. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS et al.: Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 904–912.
 68. Taha MA, Shokeir AA, Osman HG et al.: Obstructed versus dilated nonobstructed kidneys in children with congenital ureteropelvic junction narrowing: role of urinary tubular enzymes. *J Urol* 2007; 178: 640–646.
 69. Shokeir AA, Taha MA: Role of urinary tubular enzymes in evaluation of children with ureteropelvic junction narrowing under conservative management. *Urology* 2009; 73: 1016–1020.
 70. Rustom R, Costigan M, Shenkin A et al.: Proteinuria and renal tubular damage: urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and isoenzymes in dissimilar renal disease. *Am J Nephrol* 1998; 18: 179–185.
 71. Zieg J, Blahova K, Seeman T et al.: Urinary transforming growth factor-beta1 in children with obstructive uropathy. *Nephrology* 2011; 16: 595–598.
 72. Schiepati A, Pisoni R, Remuzzi G: Pathophysiology and management of chronic kidney disease. In: Greenberg A (ed.): *Primer on Kidney Diseases*. 4th ed., Elsevier Saunders, Philadelphia 2005: 444–454.
 73. Thomson SC, Deng A, Bao D et al.: Ornithine decarboxylase, kidney size, and the tubular hypothesis of glomerular hyperfiltration in experimental diabetes. *J Clin Invest* 2001; 107: 217–224.
 74. Pflueger AC, Larson TS, Hagl S et al.: Role of nitric oxide in intrarenal hemodynamics in experimental diabetes mellitus in rats. *Am J Physiol* 1999; 277: R725–R733.
 75. Mahuran DJ: Beta-hexosaminidase: biosynthesis and processing of the normal enzyme, and identification of mutations causing Jewish Tay–Sachs disease. *Clin Biochem* 1995; 28: 101–106.
 76. Lew DB, Dempsey BK, Zhao Y et al.: Beta-hexosaminidase-induced activation of p44/42 mitogen-activated protein kinase is dependent on p21Ras and protein kinase C and mediates bovine airway smooth-muscle proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 21: 111–118.
 77. Hultberg B: Urinary excretion of beta-hexosaminidase in different forms of proteinuria. *Clin Chim Acta* 1980; 108: 195–199.
 78. Vaidya VS, Waikar SS, Ferguson MA et al.: Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. *Clin Transl Sci* 2008; 1: 200–208.
 79. Wikstad I, Celsi G, Larsson L et al.: Kidney function in adults born with unilateral renal agenesis or nephrectomized in childhood. *Pediatr Nephrol* 1988; 2: 177–182.
 80. Baudoin P, Provoost AP, Molenaar JC: Renal function up to 50 years after unilateral nephrectomy in childhood. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 603–611.