

MAŁGORZATA KNAŚ<sup>1, A-F</sup>, ANNA ZALEWSKA<sup>2, B, D-F</sup>, IRENA DANISZEWSKA<sup>3, B, G</sup>,  
DANUTA WASZKIEL<sup>2, A, C</sup>

## Wybrane enzymy śliny w przebiegu twardziny układowej

### The Selected Salivary Enzymes in Patients with Systemic Sclerosis

<sup>1</sup> Instytut Ochrony Zdrowia, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa, Suwałki, Polska

<sup>2</sup> Zakład Stomatologii Zachowawczej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, Polska

<sup>3</sup> Specjalistyczna Praktyka Stomatologiczna Irena Daniszewska, Białystok, Polska

**A** – koncepcja i projekt badania; **B** – gromadzenie i/lub zestawianie danych; **C** – analiza i interpretacja danych;  
**D** – napisanie artykułu; **E** – krytyczne zrecenzowanie artykułu; **F** – zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu;  
**G** – zebranie piśmiennictwa

#### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Twardzina układowa (t.u.) jest uogólnioną chorobą tkanki łącznej. Poza skórą do najczęstszych zajętych tkanek i narządów należą między innymi układ nerwowy i gruczoły egzokrynne, w tym gruczoły ślinowe. Ważną grupą enzymów ślinowych biorących udział w rozkładzie glikokoniugatów są egzoglikozydazy lizosomalne, w tym: N-acetylo-β-D-heksozoaminidaza, jej izoenzymy A i B oraz β-glukuronidaza. Usuwanie łańcuchów oligosacharydowych może prowadzić do odsłaniania epitopów wiążących patogenne bakterie i do rozwoju chorób błony śluzowej jamy ustnej czy nasilenia procesu próchnicowego.

**Cel pracy.** Ocena wybranych enzymów lizosomalnych śliny: N-acetylo-β-D-heksozoaminidazy, jej izoenzymów A i B oraz β-glukuronidazy w ślinie pacjentów chorych na twardzinę układową.

**Materiał i metody.** W badaniu wzięło udział 40 pacjentek chorych na twardzinę układową spełniających kryteria American Rheumatism Association i LeRoy. Materiałem badawczym była ślina całkowita, niestymulowana i stymulowana pobrana od pacjenta przed wykonaniem badania stomatologicznego. Badanie aktywności specyficznej N-acetylo-β-D-heksozoaminidazy (HEX) i jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B) oraz β-glukuronidazy (GLU) przeprowadzono według metody Marciniak i Zalewskiej. Wszystkie białka ślinowe w ślinie spoczynkowej i stymulowanej oznaczono metodą cynchoninową.

**Wyniki.** Wydzielanie śliny niestymulowanej było istotnie mniejsze w grupie pacjentek chorych na twardzinę układową w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano istotne zmniejszenie pojemności buforowej śliny niestymulowanej i stymulowanej pacjentek chorych na t.u. w porównaniu do osób z grupy kontrolnej. Aktywności specyficzne HEX, HEX A, HEX B i GLU były istotnie wyższe w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na t.u. w porównaniu z grupą kontrolną. Aktywność specyficzna GLU w ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. była istotnie większa w porównaniu z grupą kontrolną. Wydzielanie minutowe białka w ślinie spoczynkowej pacjentek chorych na t.u. było istotnie mniejsze w porównaniu z grupą kontrolną kobiet zdrowych. Wykazano słabą ujemną korelację między aktywnością specyficzną HEX B a minutowym wydzieleniem śliny niestymulowanej.

**Wnioski.** Istotnie zwiększona aktywność specyficzna wszystkich omawianych egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na t.u. może przyczyniać się do ograniczenia objętości wydzielanej śliny i białka całkowitego. Istotnie zwiększona aktywność specyficzna GLU w ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. w porównaniu z grupą kontrolną może być wskaźnikiem wczesnego, klinicznie bezobjawowego uszkodzenia gruczołów przyusznych w przebiegu t.u. (*Dent. Med. Probl.* 2014, 51, 1, 79–85).

**Słowa kluczowe:** egzoglikozydazy śliny, ślina, twardzina układowa.

## Abstract

**Background.** Systemic sclerosis (Sc) is a generalized disease of connective tissue. The most common occupied tissues and organs are, among others, the nervous system and exocrine glands, including the salivary glands. An important group of enzymes involved in the salivary distribution of glycoconjugates are lysosomal exoglycosidases including: N-acetyl- $\beta$ -D-hexosaminidase, its isoenzymes A and B and  $\beta$ -glucuronidase. Removal of the oligosaccharide chains may lead to the uncovering of the binding epitopes of pathogenic bacteria and to the development of diseases of the oral mucosa or to the increase in the intensity of caries.

**Objectives.** To evaluate of selected saliva lysosomal enzymes N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase, its isoenzymes A and B and  $\beta$ -glucuronidase in the saliva of patients with systemic sclerosis.

**Material and Methods.** The study involved 40 patients with systemic sclerosis meeting the criteria for the American Rheumatism Association and LeRoy. The research material was total saliva, unstimulated and stimulated, taken from the patient by spitting method, before the dental examination. The specific activity of N-acetyl- $\beta$ -D-hexosaminidase (HEX), its isoenzymes A (HEX A) and B (HEX B) and  $\beta$ -glucuronidase (GLU) was performed according to the Marciniak and Zalewska method. All salivary proteins in resting and stimulated saliva were determined by cynchonic method.

**Results.** The secretion of unstimulated saliva was significantly lower in the group of patients with systemic sclerosis compared to the reference group. A significant decrease in the buffer capacity of unstimulated and stimulated saliva of patients with Sc compared to the reference group was observed. Specific activity of HEX, HEX A, HEX B and GLU were significantly higher in unstimulated saliva of patients with Sc compared to the reference. GLU specific activity in the unstimulated saliva of patients with Sc was significantly higher compared to the reference group. The minute secretion of proteins in the rest saliva of Sc patients was significantly lower compared to the reference group of healthy women. A weak negative correlation between the specific activity of HEX B and minute secretion of unstimulated saliva has been shown.

**Conclusions.** The significant increase of specific activity of all these lysosomal exoglycosidases in unstimulated saliva of Sc patients may contribute to the reduction of the volume of saliva flow and total protein. The significant increase of GLU specific activity in the stimulated saliva of Sc patients can be used as an early indicator of clinically asymptomatic damage of parotid gland during the course of Sc (**Dent. Med. Probl.** 2014, 51, 1, 79–85).

**Key words:** salivary exoglycosidases, saliva, systemic sclerosis.

Twardzina układowa jest uogólnioną chorobą tkanki łącznej. Charakteryzuje się rozsiałą mikroangiopatią i nadmiernie immunologicznie stymulowaną aktywnością fibroblastów, co w konsekwencji prowadzi do włóknienia głównie skóry. Poza skórą do najczęściej zajętych tkanek i narządów należą: układ kostno-stawowy, przewód pokarmowy, układ naczyniowo-sercowy, płuca, nerki, układ nerwowy i gruczoły egzokrynne, w tym gruczoły ślinowe. Zaburzenia czynności gruczołów ślinowych w przebiegu twardziny układowej było opisywane głównie w aspekcie wtórnego zespołu Sjögrena [1–4]. Badania z ostatnich lat wskazują na udział wolnych rodników w patogenezie zmniejszonego wydzielania śliny w przebiegu tej choroby [5, 6]. Patomechanizm dysfunkcji ślinianek towarzyszący tej chorobie jest jednak niewyjaśniony.

Uznany wskaźnikiem zaburzenia czynności gruczołów ślinowych w przebiegu wielu chorób ogólnoustrojowych są zaburzenia obrotu metabolicznego glikokoniugatów macierzy zewnątrzkomórkowej gruczołów ślinowych [7–11]. Ważną grupą enzymów ślinowych biorących udział w rozkładzie glikokoniugatów są egzoglikozydazy lizosomalne, w tym: N-acetylo- $\beta$ -D-heksozaminidaza, jej izoenzymy A i B oraz  $\beta$ -glukuronidaza. Enzymy te współuczestniczą w katabolizmie łańcuchów oligocukrowych i glikozaminoglikanowych, a przez to nieodłącznie są związane z procesami degradacji i odnowy ele-

mentów komórkowych i pozakomórkowych [12]. Aktywność lizosomalnych egzoglikozydaz ślinowych w stanie zdrowia jest mała. Wykazano, że zwiększenie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie odzwierciedla ich zwiększoną syntezę/uwalnianie związane z uszkodzeniem błon lizosomalnych komórek gruczołów ślinowych [12] będących skutkiem procesów zapalnych, zmian degeneracyjnych czy transformacji tkanki gruczołowej w tkankę łączną. Usuwanie łańcuchów oligosacharydowych może prowadzić do odsłaniania epitopów wiążących patogenne bakterie i do rozwoju chorób błony śluzowej jamy ustnej lub nasilenia procesu próchnicowego.

Celem pracy była ocena wybranych enzymów lizosomalnych śliny: N-acetylo- $\beta$ -D-heksozaminidazy, jej izoenzymów A i B oraz  $\beta$ -glukuronidazy w ślinie pacjentów chorych na twardzinę układową.

## Material i metody

W badaniu wzięło udział 40 pacjentek chorych na twardzinę układową spełniających kryteria American Rheumatism Association i LeRoy [13, 14]. Pacjentki zgłaszały się na okresowe wizyty kontrolne do Kliniki Reumatologii i Chorób Wewnętrznych w Białymstoku. Do badań kwalifikowano pacjentki niepalące i nieprzyjmu-

jące leków mogących wpływać na wydzielanie śliny, u których wykluczono inne choroby ogólnoustrojowe. Dodatkowym kryterium był brak stanów zapalnych błony śluzowej w jamie ustnej oraz uzyskany w badaniu klinicznym przyzębia wskaźnik GI do 2 i głębokość kieszonek dziąsłowych do 2,5 mm.

Grupę kontrolną stanowiło dopasowanych wiekiem 40 ogólnie zdrowych kobiet spełniających wyżej wymienione kryteria włączające do badań.

Program badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Pisemną zgodę uzyskano od wszystkich badanych, po wyjaśnieniu celu badań i możliwego ryzyka związanego z badaniem.

Badanie stomatologiczne przeprowadzono w Niepublicznej Specjalistycznej Lecznicy Stomatologicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, w sztucznym oświetleniu, z użyciem lusterka, zgłębnika i sondy periodontologicznej, zgodnie z kryteriami World Health Organization [15]. Badanie przeprowadzał zawsze ten sam lekarz stomatolog po pobraniu śliny niestymulowanej i stymulowanej. Stan kliniczny przyzębia oceniano, posługując się wskaźnikiem dziąsłowym *GI* (*Gingival Index*) wg Löe i Silness w obrębie 6 zębów [16]. W przypadku zachowania tylko 5 zębów wskaźniki obliczano dla zachowanych zębów. Dokonano również pomiaru głębokości kieszonek dziąsłowych (PPD). Stan uzębienia oceniono z użyciem średniej liczby *PUW* [16].

Materiałem badawczym była ślina całkowita, niestymulowana i stymulowana pobrana od pacjenta metodą odpluwania (*spitting method*). Osoby uczestniczące w badaniu zostały poinformowane, aby nie spożywać posiłków i napojów innych niż czysta woda oraz nie wykonywać zabiegów higienicznych w obrębie jamy ustnej 2 godziny przed pobieraniem śliny i aby nie przyjmować leków 8 godzin przed pobieraniem śliny [17].

Ślinę pobierano między 8–10 rano w celu zminimalizowania wpływu dobowych zmian na wydzielanie śliny [18].

Zbieranie śliny odbywało się w odrębnym pomieszczeniu, aby pacjent nie czuł się skrępowany ani zdenerwowany, w pozycji siedzącej, z głową lekko pochyloną ku dołowi, przy minimalizowaniu ruchów twarzy i warg, po 5-minutowym okresie adaptacji do otoczenia. Po tym czasie pacjent trzykrotnie przepłukał jamę ustną wodą o temperaturze pokojowej. Ślina zebrana w ciągu pierwszej minuty była wyrzucana. Kolejne partie śliny (pacjent nagromadzoną w dniu jamy ustnej ślinę aktywnie wypłukał) były zbierane do plastikowej próbki wirowniczej umieszczonej w pojemniku z lodem. Czas zebrania śliny niestymulowanej wynosił 15 minut, o objętości do 5 ml [19]. Stymula-

cja wydzielania śliny odbyła się poprzez nakrapianie na czubek języka co 30 sekund 10 µl kwasu cytrynowego o stężeniu 2%. Ślina stymulowana była zbierana 5 minut j.w., o objętości do 5 ml. Objętość każdej próbki została zmierzona kalibrowaną pipetą z dokładnością 0,1 ml.

Po zebraniu ślinę odwirowano (20 minut, 4°C, 3000 g), podzielono na porcje po 50 µl, zamrażano w -80°C i przechowywano do czasu wykonania oznaczeń. Próbkę śliny przeznaczoną do oznaczenia pojemności buforowej zostały zanalizowane natychmiast po pobraniu.

Badanie aktywności specyficznej N-acetylo-β-D-heksozoaminidazy (HEX) i jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B) oraz β-glukuronidazy (GLU) przeprowadzono według metody Marciniak i Zalewskiej [20]. Aktywność enzymów wyrażono w pKat/100 mg wszystkich białek ślinowych.

Wszystkie białka ślinowe w ślinie spoczynkowej i stymulowanej oznaczono metodą cynchoninową za pomocą zestawu BCA™ Protein Assay Kit (Pierce, No. 23225, Rockford, IL, USA) [21].

Analizę statystyczną przeprowadzono z użyciem pakietu Statistica 10 (Statsoft, Kraków, Polska) za pomocą testu *t*-studenta. Wykonano analizę korelacji Pearsona. Istotność statystyczną przyjęto na poziomie  $p < 0,05$ .

## Wyniki

Intensywność próchnicy wyrażona średnią liczbą *PUW* w grupie pacjentek chorych na t.u. była istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej ( $p = 0,031$ ) (tabela 1).

Wydzielanie śliny niestymulowanej było istotnie mniejsze w grupie pacjentek chorych na twardzinę układową w porównaniu z grupą kontrolną

**Tabela 1.** Średnie ( $\pm$  odchylenie standardowe) wartości wskaźnika intensywności próchnicy (*PUW*), głębokości kieszonek dziąsłowych (*PPD*) i wskaźnika dziąsłowego (*GI*) w grupach: pacjentów chorych na twardzinę układową (t.u.) i kontrolnej (K), w ślinie niestymulowanej (NS) i stymulowanej (S). Istotność statystyczna t.u. vs K: \* –  $p < 0,05$

**Table 1.** The mean ( $\pm$  SD) values of dental caries (DMFT) index, gingival pocket depth (PPD) and gingival index (GI) in groups: patients with systemic sclerosis (Sc) and the control (K), in unstimulated saliva (NS) and stimulated (S). Statistical significance Sc vs. K: \* –  $p < 0.05$

Wskaźnik	NS	
	K	t.u.
PUW	16 ( $\pm$ 5)	25 ( $\pm$ 3) *
PPD	2 ( $\pm$ 0,5)	2 ( $\pm$ 0,47)
GI	1,5 ( $\pm$ 0,5)	1 ( $\pm$ 0,48)

**Tabela 2.** Średnie ( $\pm$  odchylenie standardowe) wartości pH, pojemność buforową i wydzielanie śliny w grupach: pacjentów chorych na twardzinę układową (t.u.) i kontrolnej (K), w ślinie niestymulowanej (NS) i stymulowanej (S). Istotność statystyczna t.u. vs. K: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$

**Table 2.** Mean ( $\pm$  SD) values of pH, buffering capacity and secretion of saliva in groups: patients with systemic sclerosis (Sc) and the control (K), in unstimulated saliva (NS) and stimulated (S). Statistical significance Sc vs. K: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$

	NS		S	
	K	t.u.	K	t.u.
pH	6,8 ( $\pm$ 0,3)	6,1 ( $\pm$ 0,5)	6,9 ( $\pm$ 0,4)	6,3 ( $\pm$ 0,4)
Pojemność buforowa (Buffering capacity)	0,031 ( $\pm$ 0,004)	0,014 ( $\pm$ 0,007)**	0,039 ( $\pm$ 0,002)	0,013 ( $\pm$ 0,005)*
Wydzielanie śliny (Secretion of saliva)	0,45 ( $\pm$ 0,03)	0,23 ( $\pm$ 0,09)**	0,95 ( $\pm$ 0,2)	0,89 ( $\pm$ 0,2)
Wydzielanie minutowe białka (Minute secretion of proteins)	0,9 ( $\pm$ 0,2)	0,4 ( $\pm$ 0,3)*	0,86 ( $\pm$ 0,3)	0,91 ( $\pm$ 0,1)

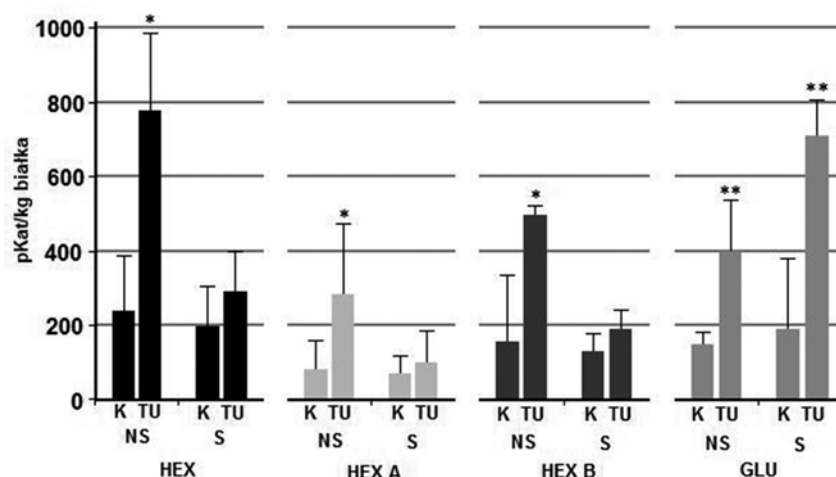
(odpowiednio  $p = 0,001$ ), wydzielanie śliny stymulowanej nie różniło się istotnie między badanymi grupami. Wykazano istotne zmniejszenie pojemności buforowej śliny niestymulowanej i stymulowanej pacjentek chorych na t.u. w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (odpowiednio:  $p = 0,009$  i  $p = 0,011$ ). pH śliny niestymulowanej i stymulowanej pacjentek chorych na twardzinę układową i osób z grupy kontrolnej nie różniły się istotnie (tabela 2).

Aktywności specyficzne HEX, HEX A, HEX B i GLU w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na t.u. były istotnie większe w porówna-

niu z grupą kontrolną (odpowiednio:  $p = 0,001$ ;  $p = 0,003$ ;  $p = 0,001$ ;  $p = 0,0001$ ) (ryc. 1).

Aktywność specyficzna GLU w ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. była istotnie większa w porównaniu z grupą kontrolną ( $p = 0,00001$ ). Aktywności HEX, HEX A i HEX B w ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. nie różniły się istotnie w porównaniu do grupy kontrolnej (ryc. 1).

Wydzielanie minutowe białka w ślinie spoczynkowej pacjentek chorych na t.u. było istotnie mniejsze w porównaniu z grupą kontrolną zdrowych kobiet ( $p = 0,04$ ). Wydzielanie minutowe białka w ślinie stymulowanej nie różniło się mię-



**Ryc. 1.** Średnie ( $\pm$  odchylenie standardowe) wartości aktywności specyficznych egzoglikozydaz śliny w grupach: pacjentów chorych na twardzinę układową (t.u.) i kontrolnej (K), w ślinie niestymulowanej (NS) i stymulowanej (S). Zastosowane skróty: N-acetylo- $\beta$ -D-heksozaminidaza (HEX), izoenzym A N-acetylo- $\beta$ -D-heksozaminidazy (HEX A), izoenzym B N-acetylo- $\beta$ -D-heksozaminidazy (HEX B),  $\beta$ -glukuronidaza (GLU). Istotność statystyczna t.u. vs. K: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$

**Fig. 1.** The mean ( $\pm$  SD) values of the specific activities of salivary exoglycosidases in groups: patients with systemic sclerosis (Sc) and the control (K), in unstimulated saliva (NS) and stimulated (S). Abbreviations: N-acetyl- $\beta$ -D-hexosaminidase (HEX), isoenzyme A of N-acetyl- $\beta$ -D-hexosaminidase (HEX A), isoenzyme B of N-acetyl- $\beta$ -D-hexosaminidase (HEX B),  $\beta$ -glucuronidase (GLU). Statistical significance Sc vs. K: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$



dzy grupą pacjentek chorych na t.u. a grupą kontrolną (tabela 2).

Wykazano ujemną korelację między aktywnością specyficzną HEX B a minutowym wydzieleniem śliny niestymulowanej przez pacjentki chore na t.u. ( $p = 0,002$ ,  $r = -0,54$ ), jak również między wydzieleniem białka w ślinie niestymulowanej a aktywnością specyficzną GLU w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na t.u. ( $p = 0,02$ ,  $r = -0,33$ ).

## Omówienie

Wykazano, że zmiany aktywności enzymów lizosomalnych zaburzają fagocytozę oraz modyfikują przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej. Obserwacje te sugerują ich udział w powstawaniu chorób z autoimmunoagresji, w tym również twardziny układowej [22, 23]. We wcześniejszych pracach autorzy wykazali, że egzoglikozydazy są dobrym wskaźnikiem uszkodzenia/zaburzenia czynności ślinianek [7, 9, 11], dlatego też postanowiono ocenić aktywność specyficzną N-acetylo- $\beta$ -D-heksozoaminidazy (HEX) i jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B) oraz  $\beta$ -glukuronidazy (GLU) w ślinie niestymulowanej i stymulowanej pacjentek chorych na twardzinę układową. Analiza ta może być użyteczna w ocenie funkcjonowania gruczołów ślinowych w przebiegu twardziny układowej oraz pomocna w ustaleniu patomechanizmu zaburzonej czynności gruczołów ślinowych w przebiegu tej choroby.

W ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na twardzinę układową odnotowano istotne nasilenie aktywności specyficznego HEX, HEX A, HEX B i GLU w porównaniu z grupą kontrolną. Uzyskane wyniki sugerują odpowiednio istotne zwiększenie katabolizmu glikokoniugatów obdarzonych ładunkiem ujemnym, jak również glikokoniugatów neutralnych i glikozoaminoglikanów zawierających kwas uronowy [24]. W ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. jedynie aktywność specyficznego GLU była istotnie podwyższona w stosunku do grupy kontrolnej, co wskazuje na wzmożenie katabolizmu glikozoaminoglikanów zawierających kwas uronowy.

Nie jest znany mechanizm opisywanych zmian aktywności egzoglikozydaz w ślinie pacjentek chorych na twardzinę układową. Wykazano, że egzoglikozydazy ślinowe mogą być syntetyzowane przez komórki gruczołów ślinowych, przez bakterie, jak również mogą być uwalniane z granulocytów obojętnochłonnych i makrofagów obecnych w kieszonce dziąsłowej [25, 26]. W badaniach własnych wykluczono pacjentki, u których występowały stany zapalne błony śluzowej

jamy ustnej oraz pacjentki, u których w badaniu klinicznym przyzębia wskaźnik dziąsłowy GI był większy niż 2, a głębokość kieszonek dziąsłowych wynosiła powyżej 2,5 mm. Wykazano także brak zależności między stanem dziąseł i głębokością kieszonek a aktywnością badanych enzymów lizosomalnych. Brak zależności między aktywnością ślinowych egzoglikozydaz lizosomalnych a określonymi parametrami stanu jamy ustnej wskazuje, że enzymy te mogą być wskaźnikiem uszkodzenia tkanki gruczołowej ślinianek.

Istotne zwiększenie aktywności wszystkich omawianych egzoglikozydaz w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na twardzinę układową w porównaniu z grupą kontrolną wskazuje na zaawansowanie procesów przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej w gruczołach podżuchwowych. Powszechnie jest akceptowany pogląd, że wydzielenie niestymulowane odzwierciedla funkcjonowanie gruczołów podżuchwowych, a wydzielenie stymulowane przyusznych [6, 27]. Udowodniono, że zwiększenie aktywności enzymów lizosomalnych, w tym również egzoglikozydaz, powodując wzrost degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), zaburza komunikację między komórkami pęcherzykowymi ślinianek a zakończeniami nerwowymi i doprowadza do ograniczenia wydzielanej śliny [28]. Jest również możliwe, że nasilenie aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych zwiększa proces degradacji glikokoniugatów tkanki gruczołowej ślinianek. Proces ten w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia czynnej powierzchni wydzielniczej gruczołów ślinowych, co z jednej strony skutkuje zmniejszeniem objętości wydzielanej śliny, a z drugiej wpływa ujemnie na syntezę i wydzielenie białka. Hipoteza ta znajduje poparcie w wynikach badań własnych, a mianowicie ujemnej korelacji między aktywnością HEX B a wydzieleniem śliny niestymulowanej i między aktywnością GLU a minutowym wydzieleniem białka w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na t.u.

W ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. odnotowano jedynie istotne zwiększenie aktywności specyficznego glukuronidazy. Wynik ten może wskazywać na istnienie stanu zapalnego w gruczołach ślinowych, któremu towarzyszy napływ neutrofilów. GLU jest bowiem uważana za marker napływu neutrofilów i uwalniania przez te komórki granulek pierwotnych [29, 30]. Istotnie zwiększona aktywność specyficznego GLU w ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. w porównaniu do osób z grupy kontrolnej może być również wskaźnikiem wczesnego uszkodzenia gruczołów przyusznych w przebiegu t.u., które nie wpływa na funkcjonowanie tych gruczołów ślinowych. Nasileniu aktywności GLU nie towarzy-

szy bowiem ograniczenie wydzielanej śliny stymulowanej i zmiany w wydzielaniu białka całkowitego.

W podsumowaniu można stwierdzić, że istotnie zwiększona aktywność specyficzna wszystkich omawianych egzoglikozydaz lizosomalnych w ślinie niestymulowanej pacjentek chorych na

t.u. może przyczyniać się do zmniejszenia objętości wydzielanej śliny i białka całkowitego. Istotnie zwiększona aktywność specyficzna GLU w ślinie stymulowanej pacjentek chorych na t.u. w porównaniu do grupy kontrolnej może być wskaźnikiem wczesnego, klinicznie bezobjawowego uszkodzenia gruczołów przyusznych w przebiegu t.u.

## Piśmiennictwo

- [1] ANDONOPOULOS A.P., DROSOS A.A., SKOPOULI F.N., MOUTSOPOULOS H.M.: Sjögren's syndrome in rheumatoid arthritis and progressive systemic sclerosis. A comparative study. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1989, 7, 203–205.
- [2] DROSOS A.A., ANDONOPOULOS A.P., COSTOPOULOS J.S., STAVROPOULOS E.D., PAPADIMITRIOU C.S., MOUTSOPOULOS H.M.: Sjögren's syndrome in progressive systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 1988, 15, 965–968.
- [3] OSIAL T.A.J., WHITESIDE T.L., BUCKINGHAM R.B., SINGH G., BARNES E.L., PIERCE J.M., RODNAN G.P.: Clinical and serologic study of Sjögren's syndrome in patients with progressive systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1983, 26, 500–508.
- [4] RASKER J.J., JAYSON M.I., JONES D.E., MATTHEWS R., BURTON J.L., RHYS DAVIS E., BURTON P.A.: Sjögren's syndrome in systemic sclerosis. A clinical study of 26 patients. *Scand. J. Rheumatol.* 1990, 19, 57–65.
- [5] SU H., BARON M., BENARROCH M., VELLY A.M., GRAVEL S., SCHIPPER H.M., GORNITSKY M.: Altered salivary redox homeostasis in patients with systemic sclerosis. *J. Rheumatol.* 2010, 37, 1858–1863.
- [6] ZALEWSKA A., KNAŚ M., WASZKIEWICZ N., KLIMIUK A., LITWIN K., SIERAKOWSKI S.: Salivary antioxidants in patients with systemic sclerosis. *J. Oral Pathol. Med.* 2013 (in press).
- [7] BIERĆ M., MINAROWSKI Ł., WOŹNIAK Ł., CHOJNOWSKA S., KNAŚ M., SZAJDA S.D., ZWIERS K.: The activity of selected glycosidases in salivary gland tumors. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2010, 48, 471–474.
- [8] BORZYM-KLUCZYK M., OLSZEWSKA E., RADZIEJEWSKA I., LEWSZUK A., ZWIERS K.: Isoenzymes of N-acetyl-beta-hexosaminidase in human pleomorphic adenoma and healthy salivary glands: a preliminary study. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2008, 46, 131–136.
- [9] WASZKIEWICZ N., SZAJDA S.D., JANKOWSKA A., WASZKIEWICZ M., KĘPKA A., KONARZEWSKA B., SZULC A., SNARSKA J., ZWIERS K.: Catabolism of salivary glycoconjugates in acute ethanol intoxication. *Med. Sci. Monit.* 2009, 15, 413–417.
- [10] ZALEWSKA A., KNAŚ M., GUMIĘŻNY G., NICZYPORUK M., WASZKIEL D., PRZYSTUPA A.W., ZARZYCKI W.: Salivary exoglycosidases in gestational diabetes. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2013, 67, 315–320.
- [11] ZALEWSKA A., SZULIMOWSKA J., WASZKIEWICZ N., WASZKIEL D., ZWIERS K., KNAŚ M.: Salivary exoglycosidases in the detection of early onset of salivary gland involvement in rheumatoid arthritis. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2013, 67, 1–7.
- [12] WASZKIEWICZ N., SZAJDA S.D., KĘPKA A., SZULC A., ZWIERS K.: Glycoconjugates in the detection of alcohol abuse. *Biochem. Soc. Trans.* 2011, 39, 365–369.
- [13] Committee S.f.S.c.o.t.A.R.A.D.a.T.C.: Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.* 1982, 23, 581–590.
- [14] LEROY E.C., BLACK C., FLEISCHMAJER R., JABLONSKA S., KRIEG T., MEDSGER T.A.J., ROWNELL N., WOLLHEIM F.: Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J. Rheumatol.* 1988, 15, 202–205.
- [15] WHO. Oral Health Surveys Basic Methods. 1986; Genewa; 1986.
- [16] KNYCHALSKA-KARWAN Z.: Zbiór wskaźników stomatologicznych i niektórych testów oraz klasyfikacji. Wydawnictwo Czelej, Lublin 2006.
- [17] NAVAZESH M., CHRISTENSEN C., BRIGHTMAN V.: Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. *J. Dent. Res.* 1992, 71, 1363–1369.
- [18] YOUNG J.A., SCHNEYER C.A.: Composition of saliva in mammalia. *AJEBAK.* 1981, 59, 1–53.
- [19] JONSSON R., MOEN K., VESTRHEIM D., SZODRAY D.: Current issue in Sjögren syndrome. *Oral Dis.* 2002, 8, 130–140.
- [20] MARCINIAK J., ZALEWSKA A., POPKO J., ZWIERS K.: Optimization of an enzymatic method for the determination of lysosomal N-acetyl-beta-D-hexosaminidase and beta-glucuronidase in synovial fluid. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2006, 44, 933–937.
- [21] SMITH P.K., KROHN R.I., HERMANSON G.T., MALLIA A.K., GARTNER F.H., PROVENZANO M.D., FUJIMOTO E.K., GOEKE N.M., OLSON B.J., KLENK D.C.: Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* 1985, 150, 76–85.
- [22] MALECH H.L., GALLIN J.L.: Current concepts: immunology. Neutrophils in human diseases. *N. Engl. J. Med.* 1987, 317, 6847–6870.
- [23] WEISS S.J.: Tissue destruction by neutrophils. *N. Engl. J. Med.* 1989, 320, 365–376.
- [24] ZWIERS K., ZALEWSKA A., ZOCH-ZWIERS W.: Isoenzymes of N-acetyl-beta-hexosaminidase. *Acta Biochim. Polon.* 1999, 46, 739–757.
- [25] NAKAMURA M., SLOTS J.: Salivary enzymes. Origin and relationship to periodontal disease. *J. Periodontol. Res.* 1983, 18, 559–569.

- [26] ZAMBON J., NAKAMURA M., SLOTS J.: Effect of periodontal therapy on salivary enzymatic activity. *J. Periodontol. Res.* 1985, 20, 652–659.
- [27] NAGLER R.M., KLEIN I., ZARZHEVSKY N., DRIGUES N., REZNICK A.Z.: Characterization of the differentiated anti-oxidant profile of human saliva. *Free Radic. Biol. Med.* 2002, 32, 268–277.
- [28] SOHAR N., SOHAR I., HAMMER H.: Lysosomal enzyme activities: New potential markers for Sjogren's syndrome. *Clin. Biochem.* 2005, 38, 1120–1126.
- [29] ALBANDAR J.M., KINGMAN A., LAMSTER I.B.: Cervicular fluid level of beta-glucuronidase in relation to clinical periodontal parameters and putative periodontal pathogens in early-onset periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 1998, 25, 630–639.
- [30] ELEY B.M., COX S.W.: Advances in periodontal diagnosis 7. Proteolytic and hydrolytic enzymes link with periodontitis. *Br. Dent. J.* 1999, 184, 323–328.

### **Adres do korespondencji:**

Małgorzata Knaś  
ul. Jaroszkówka 72  
15-157 Białystok  
tel.: +48 600 549 562  
e-mail: knass@wp.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 13.12.2013 r.  
Po recenzji: 3.01.2014 r.  
Zaakceptowano do druku: 27.01.2014 r.

Received: 13.12.2013  
Revised: 3.01.2014  
Accepted: 27.01.2014