

Klinički centar Srbije, Beograd, Klinika za pulmologiju<sup>1</sup>  
 Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet<sup>2</sup>  
 Klinički centar Srbije, Beograd, Institut za biohemiju<sup>3</sup>

UDK 616-002.7-07:577.151.6  
 DOI: 10.2298/MPNS13S1026F

## HITOTRIOZIDAZA – POTENCIJALNI BIOMARKER U SARKOIDOZI

### CHITOTRIOSIDASE – A POTENTIAL BIOMARKER IN SARKOIDOSIS

Snežana FILIPOVIĆ<sup>1</sup>, Violeta MIHAILOVIĆ VUČINIĆ<sup>1,2</sup>, Maja OMČIKUS<sup>1</sup>,  
 Jelica VIDENOVIĆ IVANOV<sup>1,2</sup>, Mihailo I. STJEPANOVIĆ<sup>1</sup>, Zorica ŠUMARAC<sup>3</sup>

#### Sažetak

**Uvod.** Sarkoidoza je multisistemsko granulomatozno oboljenje za koje je karakteristično formiranje nekazeifikovanih granuloma u zahvaćenim organima. **Diskusija i pregled literature.** Hitotriozidaza je enzim koji spada u familiju hitinaza, glikopolimer koji je prisutan kod mnogih organizama kao što su gljive, nematode i insekti. Do sada nije pronađena uloga ovog enzima u metabolizmu kod ljudi, međutim hitotriozidaza ima ulogu u urođenom imunitetu i dobar je pokazatelj makrofagne aktivnosti. Povišene vrednosti serumске hitotriozidaze su videne kod lizozomnih bolesti kao što su Goševa bolest, kao i kod fukocidoze i galaktosialidoze, takode i u aterosklerozi, β-talidemiji, akutnoj malariji koju izazva *Plasmodium falciparum*, visceralnoj lajšmanijazi, kao i u cerebrosposinalnoj tečnosti obolelih od multiple skleroze. Hitotriozidazu je prvi put uveo kao biomarker u sarkoidozi Grosso i saradnici 2004. godine, koji su pokazali da je vrednost hitotriozidaze viša kod bolesnika sa sarkoidozom u odnosu na kontrolnu grupu. Ispitivanje hitotriozidaze kao biomarkera rađeno je i na našoj Klinici tokom 2011. godine; ispitano je 217 bolesnika kod kojih je patohistološki verifikovana sarkoidoza i pokazano je da je hitotriozidaza znatno bolje od angiotenzin-konvertujućeg enzima diferencira aktivnu formu bolesti od neaktivne, te ima ulogu i u dijagnostici i prognozi bolesti. **Zaključak.** Hitotriozidaza je dobar biomarker u sarkoidozi sa dobrom senzitivnošću i specifičnošću.

**Cljučne reči:** Sarkoidoza; Biološki markeri; Hitotriozidaza; Dijagnoza; Senzitivnost i specifičnost; Prognoza

#### Uvod

Sarkoidoza je multisistemsko granulomatozno oboljenje za koje je karakteristično formiranje nekazeifikovanih granuloma u zahvaćenim organima. Bolest je nepoznate etiologije i nepredvidivog toka. Najčešće zahvata pluća, limfne čvorove i kožu. Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničke slike, radiografskog nalaza, ali za definitivnu potvrdu potreban je patohistološki nalaz sa prisustvom nekazeifikovanih granuloma bez mogućnosti da se radi o reakciji sličnoj sarkoidu [1]. Za sada nepoznati antigen pokre-

#### Summary

**Introduction.** Sarcoidosis is a multisystem granulomatous disease, whose unpredictable course has prompted research into biomarkers useful to predict outcome. **Discussion and Review of Literature.** Chitotriosidase, a chitinase produced by activated macrophages, has recently been proposed as an indicator among the potential markers of sarcoidosis. Chitotriosidase is involved in the defense against pathogens containing chitin. Increased concentrations of chitotriosidase have been observed in a number of lysosomal storage diseases, such as Gaucher's disease, fucosidosis, galactosialidosis, atherosclerosis, β-thalassemia, Plasmodium falciparum-induced acute malaria, visceral leishmaniasis and more recently in the cerebrospinal fluid in patients suffering from multiple sclerosis. Serum chitotriosidase activity in patients with sarcoidosis was first evaluated by Grosso et al in 2004. The idea to detect the enzyme in sarcoidosis sprang from evidence of direct involvement of activated macrophages in the pathogenesis of sarcoidosis and granuloma formation. Serum chitotriosidase was tested as a biomarker at our department in 2011, when 217 sarcoidosis patients were examined. Serum chitotriosidase has proved to differentiate active from inactive form of the disease much better than angiotensin-converting enzyme, thus adding to its role in the diagnosis and prognosis of this disease. **Conclusion.** Chitotriosidase is a good biomarker of sarcoidosis with good sensitivity and specificity.

**Key words:** Sarcoidosis; Biological Markers; Hexosaminidases; Diagnosis; Sensitivity and Specificity; Prognosis

će imunoodgovor koji je posredovan alveolarnim makrofagima i limfocitima koji luče veliki broj medijatora kao što su citokini, hemokini, slobodni radikali, kao i mnogi drugi koji učestvuju u patogenezi sarkoidoze [2,3]. Odgovor T-pomažućih ćelija sa akumulacijom CD4<sup>+</sup> limfocita i aktiviranih makrofaga u plućima i zahvaćenim organima dovodi do formiranja granuloma [4]. Sarkoidoza može imati akutnu ili hroničnu formu u čijem krajnjem ishodu dolazi do fibroze pluća [5,6]. Upravo zbog ovakvog nepredvidivog kliničkog toka bolesti postoji potreba za biomarkerom koji bi mogao predvideti ishod i razvoj bolesti. Angiotenzin-konvertujući enzim (ACE) do sada je najčešće i najšire korišćen biomarker kod sarkoidoze u prognostičke i dijagnostičke svrhe, počevši još od 1975. godine [7]. Međutim ovaj enzim ima ograniče-

Izrada ovog rada podržana je sredstvima sa projekata broj 175046 i 175081, 2011–2014, koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Adresa autora: Dr Snežana Filipović, Klinika za pulmologiju, Klinički centar Srbije,  
 11.000 Beograd, Koste Todorovića 26, E-mail: snezana.filipovic@kcs.ac.rs

**Skraćenice**

ACE – angiotenzin-konvertujući enzim

nu senzitivnost (50–60%) i specifičnost, tako da se u dijagnostici i praćenju bolesti može koristiti ali u korelaciji sa drugim markerima, kliničkom slikom i radiografskim nalazima [8]. Upravo zbog nedostaka pouzdanijeg biomarkera u ovoj bolesti postoji potreba za ispitivanjem i pronalaženjem pouzdanih biomarkera sa većom senzitivnošću.

**Diskusija i pregled literature**

Hitotriozidaza je enzim koji spada u familiju hitinaza, glikopolimer koji je prisutan kod mnogih organizama kao što su gljive, nematode i insekti. Do sada nije pronađena uloga ovog enzima u metabolizmu kod ljudi, međutim hitotriozidaza ima ulogu u urođenom imunitetu i dobar je pokazatelj makrofagne aktivnosti [9]. Spada u familiju od 18 glikozilhidrolaza (nazvanih još i hitinaza) koji učestvuju u degradaciji hitina i hitinu sličnim supstancijama [10,11]. Uočeno je da oko 6% populacije nema hitotriozidazu, pošto su u pitanju homozigoti za ekspresiju gena koji kodira ovaj enzim [12]. Aktivirani makrofagi luče hitotriozidazu, a po nekim autorima i makrofagi i neutrofili su izvor ovog enzima koji se aktivira pod dejstvom GMCS (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) [13, 14]. Povišene vrednosti serumske hitotriozidaze su viđene kod lizozomnih bolesti kao što su Goševa bolest, kao i kod fukocidoze i galaktosijalidozi [15]. Povišene vrednosti su takođe opservirane i u drugim bolestima kao što je ateroskleroza [16],  $\beta$ -talasemija [17], akutna malarija koju izaziva *Plasmodium falciparum* [18], visceralna lajšmanijaza, kao i u cerebrospinalnoj tečnosti obolelih od multiple skleroze [19]. Smatra se da je hitotriozidaza serumski marker makrofagne aktivnosti [10] i primarno biohemijski marker u Goševoj bolesti [15,20]. Hitotriozidazu je prvi put kao mogući biomarker za sarkoidozu uveo Grosso i saradnici 2004. godine, koji su pokazali da je vrednost hitotriozidaze viša kod bolesnika sa sarkoidozom u odnosu na kontrolnu grupu. Ovom studijom kojom je obuhvaćeno 43 ispitanika kod kojih je potvrđena sarkoidoza i 32 ispitanika koji su bili deo kontrolne grupe viđeno je i da su vrednosti hitotriozidaze više kod aktivne forme bolesti u odnosu na neaktivnu formu, kao i da postoji i korelacija između ovog enzima i radiološkog stadijuma bolesti, što ukazuje na to da se hitotriozidaza može koristiti kako u prognostičke tako i u dijagnostičke svrhe [21]. Ideja za upotrebu ovog markera u sarkoidozi je potekla iz toga da aktivirani makrofagi učestvuju u patogenezi ove bolesti kao i u formiranju granuloma. Bolesnici sa sarkoidozom imaju povišen nivo hitotriozidaze kao rezultat masovne proizvodnje hitotriozidaze iz sarkoidnih makrofaga [2]. Ispitivanje hitotriozidaze kao biomarkera rađeno je i na našoj klinici tokom 2011. godine. Is-

pitano je 217 bolesnika kod kojih je patohistološki verifikovana sarkoidoza, i pokazano je da je hitotriozidaza znatno bolje od ACE diferencira aktivnu formu bolesti od neaktivne, što ukazuje na to da ima ulogu i u dijagnostici i prognozi bolesti [22]. Nakon 2004. godine, osim na našoj klinici, rađene su mnoge studije koje ispituju značaj hitotriozidaze u plućnim bolestima, pre svega kod sarkoidoze. Najnovija studija Bargagli i autora iz 2012. godine obuhvatila je 232 bolesnika sa sarkoidozom na osnovu kojih je ispitivana specifičnost i senzitivnost hitotriozidaze i serumske koncentracije ovog enzima u različitim bolestima. Kao i u svim dosadašnjim studijama, vrednosti serumske hitotriozidaze su bile značajno više u poređenju sa kontrolom grupom. Senzitivnost hitotriozidaze je 88,6%, specifičnost 92,8%. Najmanje vrednosti su nađene kod nelečenih bolesnika u remisiji (COS-1), dok su najviše vrednosti viđene kod bolesnika sa perzistirajućom bolesti, prisutnim simptomima i pogoršanjem u poslednjih godinu dana (COS-9) [23,24].

**Hitotriozidaza u intersticijalnim bolestima pluća**

Bargagli i saradnici su tokom 2007. godine ispitivali značaj hitotriozidaze kod idiopatske fibroze pluća, fibroze pluća koja je posledica sistemske skleroze, sarkoidoze kao i kod zdravih ispitanika. Na osnovu njihove studije viđene su znatno više vrednosti serumske hitotriozidaze kod bolesnika sa sarkoidozom u odnosu na bolesnike sa idiopatskom plućnom fibrozom (IPF) i sistemskom sklerozom (SS) [25].

**Hitotriozidaza u tuberkulozi**

Povećana aktivnost makrofaga je prisutna i kod tuberkuloze, te je tokom 2007. godine prvi put ispitivana i vrednost hitotriozidaze kod ovih bolesnika. Poređenjem vrednosti serumske hitotriozidaze obolelih od tuberkuloze sa zdravim ispitanicima i bolesnika sa sarkoidozom znatno više vrednosti su nađene kod obolelih od sarkoidoze. Upravo ovi podaci podržavaju hipotezu da bi hitotriozidaza mogla biti novi biomarker kod sarkoidoze [26].

Slične rezultate su dobili Cakir i saradnici, koji su ispitivali korelaciju između plućne tuberkuloze i vrednosti serumske hitotriozidaze. Postojala je umerena povezanost između aktivne tuberkuloze (brojem bacila i radiografskog nalaza) i vrednosti hitotriozidaze, dok kod lečenih bolesnika sa sekvelama nije nađena korelacija. Hitotriozidaza kao marker u tuberkulozi može se eventualno koristiti u opisu proširenosti bolesti kao i za praćenje efekata antituberkulinske terapije [27].

Značaj ovog enzima je i u tome što pokazuje veću specifičnost od ACE, koji je povišen i u drugim granulomatoznim obojenjima, pre svega u milijarnoj tuberkulozi [8].

## Zaključak

Na osnovu dosadašnjih studija i pregleda literature može se zaključiti da je hitotriozidaza dobar

biomarker u sarkoidozi sa dobrom senzitivnošću i specifičnošću. Može se koristiti u kliničkoj praksi za praćenje bolesnika sa progresivnom bolešću, za otkrivanje recidiva i praćenje efekta terapije.

## Literatura

1. Vucinic-Mihailovic V, Iginatovic S, Dudvarski-Ilić A, Stjepanovic M, Vukovic M, Omcikus M, et al. The role of vitamin D in multisystem sarcoidosis. *J Med Biochem.* 2012;31(4):339-46.
2. Dai H, Guzman J, Chen B, Costabel U. Production of soluble TNF receptor and TNF alpha by alveolar macrophages in sarcoidosis and extrinsic allergic alveolitis. *Chest.* 2005;127:251-6.
3. Stojisic J, Vučinić-Mihailović V, Jovanović D, Stojković M, Videnović-Ivanov J, Filipović S. Evaluation of the role of pathology in the diagnosis and differential diagnosis of pulmonary and extrapulmonary sarcoidosis. *Srp Arh Celok Lek.* 2011;139(7-8):481-5.
4. Baughman RP, Lower EE, du Bois RM. Sarcoidosis. *Lancet.* 2003;361:1111-8.
5. Mihailović-Vucinić V, Videnović-Ivanov J, Gostiljac D, Filipović S, Marić J. Chronic sarcoidosis. *Med Pregl.* 2005;58(Suppl 1):39-43.
6. Judson MA, Baughman RP, Thompson BW, et al. Two years prognosis of sarcoidosis: the ACCESS experience. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2003;20:204-11.
7. Lieberman J. Elevation of serum angiotensin-converting enzyme (ACE) level in sarcoidosis. *Am J Med.* 1975;59:365-72.
8. Schurmann M. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism in patients with pulmonary sarcoidosis: impact on disease severity. *Am J Pharmacogenomics.* 2003;3:233-43.
9. Di Rosa M, Musumeci M, Scuto A, Musumeci S, Malaguarnera L. Effect of interferon- $\gamma$ , interleukin-10, lipopolysaccharide and tumor necrosis factor- $\alpha$  on chitotriosidase synthesis in human macrophages. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43:499-502.
10. Bargagli E, Maggiorelli C, Rottoli P. Human chitotriosidase: a potential new marker of sarcoidosis severity. *Respiration.* 2008;76(2):234-8.
11. Boot RG, Bussink AP, Verhoek M, et al. Marked differences in tissue-specific expression of chitinases in mouse and man. *J Histochem Cytochem* 2005;53:1283-92.
12. Zheng T, Rabach M, Chen NY, Rabach L, et al. Molecular cloning and functional characterization of mouse chitotriosidase. *Gene* 2005;357:37-46.
13. Korolenko TA, Zhanaeva SY, Falameeva OV, et al. Chitotriosidase as a marker of macrophage stimulation. *Bull Exp Biol Med* 2000;130:948-50.
14. Van Eijk M, van Roomen CP, Renkema GH, et al. Characterization of human phagocyte derived chitotriosidase: a component of innate immunity. *Int Immunol* 2005;15:1505-12.
15. Vellodi A, Foo Y, Cole TJ. Evaluation of three biochemical markers in the monitoring of Gaucher disease. *J Inherit Metab Dis* 2005;28:585-92.
16. Artieda M, Cennaro A, Ganan A, et al. Serum chitotriosidase in subjects with atherosclerosis disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1645-52.
17. Altarescu G, Rudensky B, Abrahamov A, et al. Plasma chitotriosidase activity in patients with beta-thalassemia. *Am J Hematol.* 2003;72:285-6.
18. Barone R, Simapore J, Malaguarnera L, Pignatelli S, Musumeci S. Plasma chitotriosidase activity in acute *Plasmodium falciparum* malaria. *Clin Chim Acta.* 2003;331:79-85.
19. Michelakakis H, Dimitriou E, Labadaridis I. The expanding spectrum of disorders with elevated plasma chitotriosidase activity: an update. *J Inherit Metab Dis.* 2004;27:705-6.
20. Deegan PB, Cox TM. Clinical evaluation of biomarkers in Gaucher disease. *Acta Paediatr Suppl.* 2005;94:47-50.
21. Grosso S, Margollicci MA, Bargagli E, et al. Serum levels of chitotriosidase as a marker of disease activity and clinical stage in sarcoidosis. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004;64:57-62.
22. Filipović S, Šumarac Z, Vučinić V, Vuković M, Videnović J, Škodrić-Trifunović V, et al. Serum chitotriosidase: a potential marker of sarcoidosis activity. *Chest* October. 2011; 140(4):927A.
23. Bargagli E, Bennett D, Maggiorelli C, Di Sipio P, Margollicci M, Bianchi N, et al. Human chitotriosidase: a sensitive biomarker of sarcoidosis. *J Clin Immunol.* 2013;33(1):264-70.
24. Gvozdenovic B, Mihailovic-Vucinic V, Vukovic M, Lower E, Baughman R, Dudvarski-Ilic A, et al. Effect of obesity on patient reported outcomes in sarcoidosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17(4):559-64.
25. Bargagli E, Margollicci MA, Luddi A, et al. Chitotriosidase activity in patients with interstitial lung diseases. *Respir Med.* 2007;101:2176-81.
26. Bargagli E, Margollicci M, Nikiforakis N, et al. Chitotriosidase activity in the serum of patients with sarcoidosis and pulmonary tuberculosis. *Respiration.* 2007;74:548-52.
27. Cakir G, Gumus S, Ucar E, Kaya H, Tozkoparan E, Akgul EO, et al. Serum chitotriosidase activity in pulmonary tuberculosis: response to treatment and correlations with clinical parameters. *Ann Lab Med.* 2012;32(3):184-9.

Rad je primljen 28. II 2013.

Recenziran 9. III 2013.

Prihvaćen za štampu 14. III 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:(Suppl 1):26-28.