

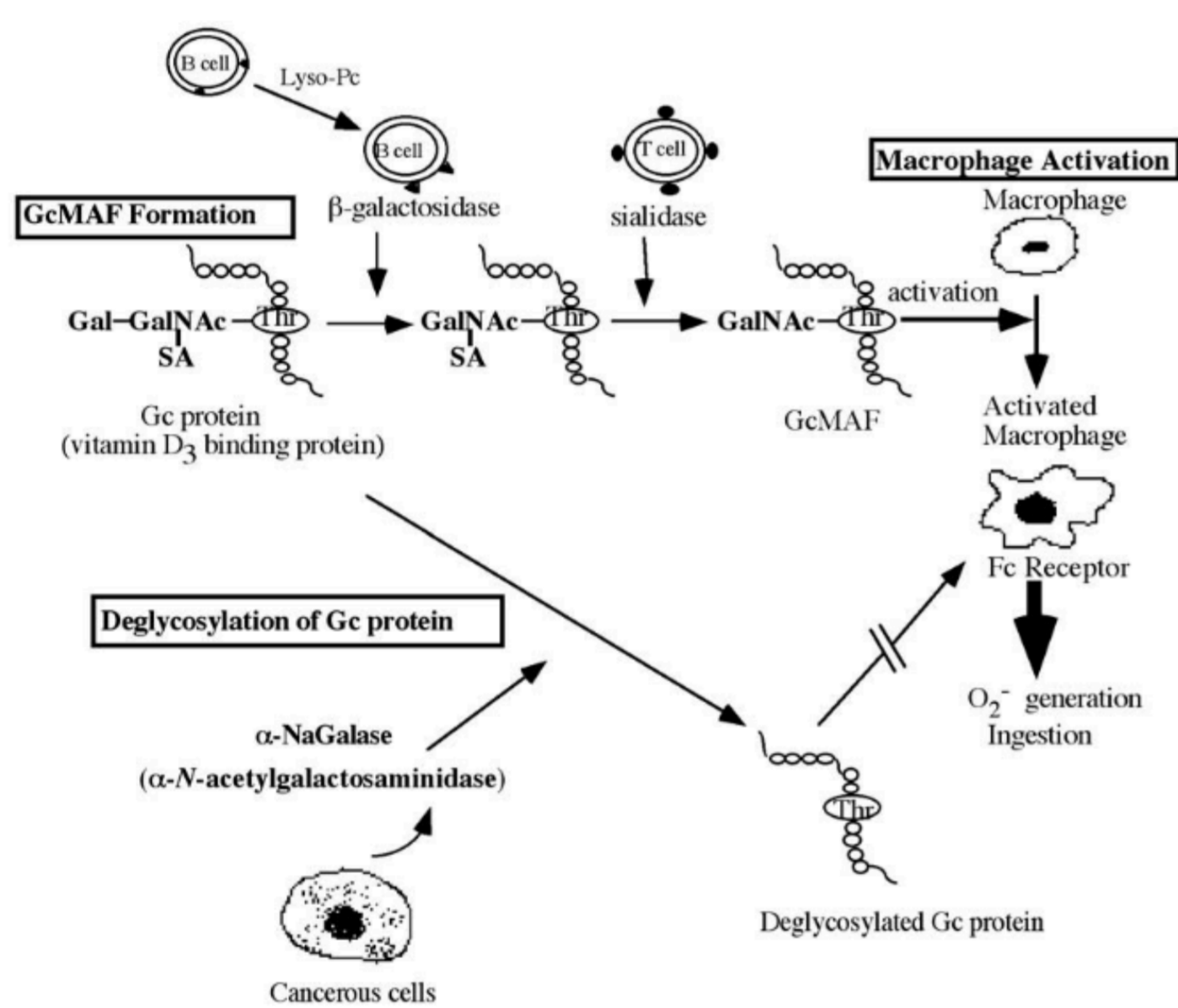
# Ontwikkeling van een FA-test voor het opsporen van nagalase in het serum van patiënten

Mathias Van den Eynden

Master IW biochemie

## Probleemstelling

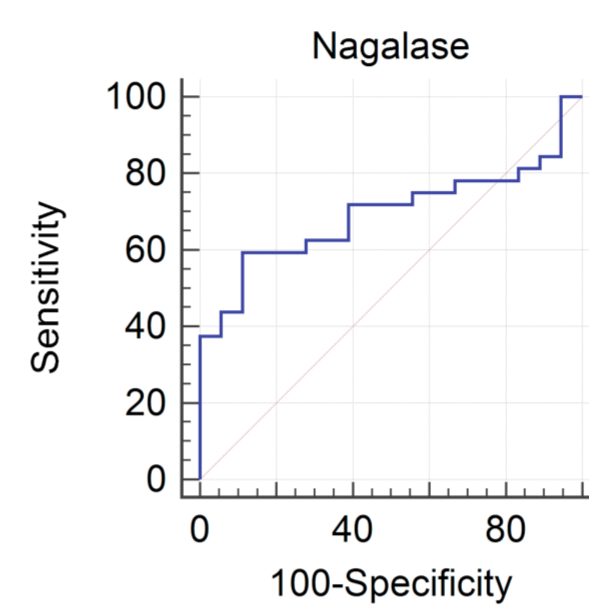
Het enzym nagalase ( $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase of NAGA) wordt geproduceerd door humane cellen. Het staat in voor de afbraak van glycolipiden en glycopeptiden en speelt een rol in het immuunsysteem [1]. In verband met nagalase zijn er twee mogelijke problemen: deficiëntie en overexpressie. Deficiëntie van nagalase kan leiden tot de ziekte van Schindler en Kanzaki [2]. De overexpressie van nagalase zou voorkomen bij cellen geïnfecteerd door bepaalde virussen, zoals hiv en influenza, bij bepaalde vormen van kanker, bij personen met een autismespectrumstoornis en bij overmatige alcoholconsumptie [3, 4, 5]. Figuur 1 toont de invloed van nagalase op het immuunsysteem. Overexpressie van nagalase leidt tot een volledige deglycosylatie van Gc-globuline, het vitamine D-bindend proteïne. Normaal wordt Gc-globuline partieel gedeglycosyleerd tot Gc-MAF, een macrofaagactiverende factor. Bij overexpressie van nagalase kan het Gc-globuline niet omgezet worden tot Gc-MAF, waardoor het immuunsysteem verstoord wordt. Hoofddoel is een efficiënte meetmethode te ontwikkelen voor nagalase, zo kostefficiënt mogelijk met korte analyseduur, om daarna patiëntensera op nagalaseactiviteit te testen.



Figuur 1: Deglycosylatie van Gc-globuline [6]

## Resultaten

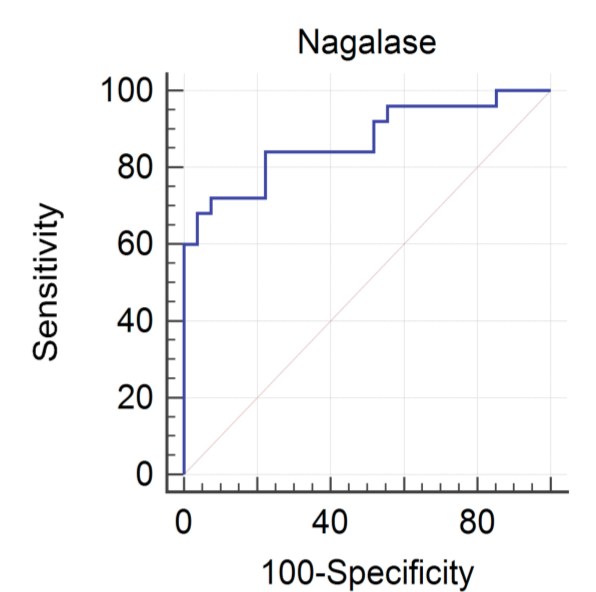
### Alcoholisme



Figuur 4: ROC-curve nagalaseactiviteit in serumstalen van alcoholisten

AUC = 0,694  
P-waarde = 0,009

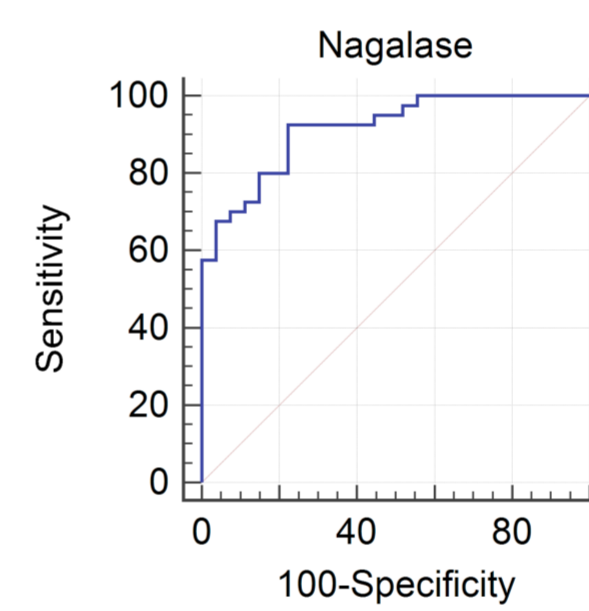
### Borstkanker



Figuur 5: ROC-curve nagalaseactiviteit in serumstalen van patiënten met borstkanker

AUC = 0,870  
P-waarde = <0,0001

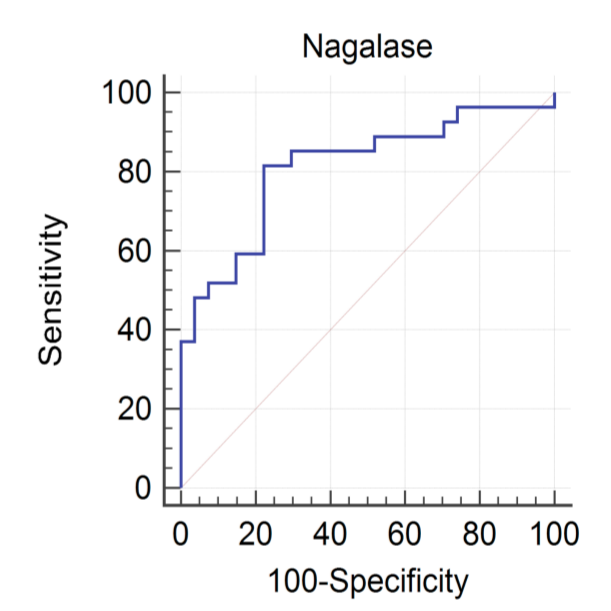
### Pancreaskanker



Figuur 6: ROC-curve nagalaseactiviteit in serumstalen van patiënten met pancreaskanker

AUC = 0,915  
P-waarde = <0,0001

### Ovariumkanker



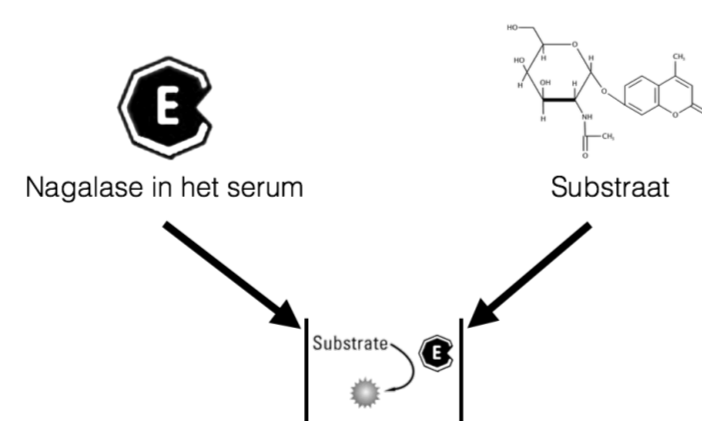
Figuur 7: ROC-curve nagalaseactiviteit in serumstalen van patiënten met ovariumkanker

AUC = 0,812  
P-waarde = <0,0001

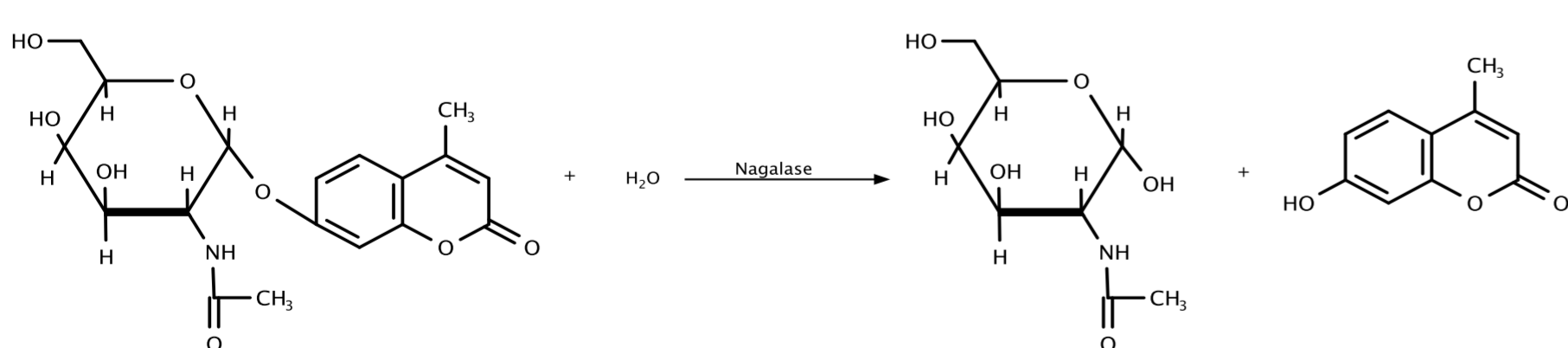
Voor deze 4 aandoeningen is er een significant verschil aangetoond met de respectievelijke controlegroep (P-waarde <0,05 en AUC = oppervlakte onder curve nadert 1). Nagalaseactiviteit is dus een goede parameter om patiënten met deze aandoeningen op te volgen.

## Methode

Om de activiteit van nagalase te meten is een *fluorimetric assay* (FA) het meest geschikt. Hierbij wordt een fluorescent substraat (4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -N-acetyl-D-galactosaminide) toegevoegd aan het serum (zie figuur 2). Het nagalase in het serum zal dit substraat hydrolyseren waarbij het fluorescerend 4-methylumbelliferyl, na het stoppen van de reactie, een signaal genereert evenredig met de nagalaseactiviteit, zie figuur 3.



Figuur 2: Overzicht FA



Figuur 3: Reactie van nagalase en 4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -N-acetyl-D-galactosaminide

## Besluit

Het is gelukt om een methode te ontwikkelen om de nagalaseactiviteit in patiëntensera te bepalen, via een FA. De methode is werkzaam en efficiënt qua kosten en analyseduur. Uit de resultaten van deze masterproef blijkt dat nagalase een goede parameter is om prostaatkanker op te volgen, hoewel dit wel beschreven staat in de literatuur [6]. Er mag wel geconcludeerd worden dat nagalaseactiviteit kan gebruikt worden bij de opvolging van borst-, pancreas- en ovariumkanker en bij patiënten die een alcoholprobleem hebben. Via de nagalaseactiviteit in het serum van deze patiënten kan de specifieke behandeling opgevolgd worden. Vermits de activiteit van nagalase een geschikte parameter blijkt te zijn voor de opvolging van een aantal vormen van kanker en alcoholmisbruik kan in een volgend onderzoek getest worden of deze hypothese kan uitgebreid worden naar andere aandoeningen.

## Referenties

- [1]: Tomasic, I., et al. (2010). Interconversion of the Specificities of Human Lysosomal Enzymes Associated with Fabry and Schindler Diseases. *The Journal of biological chemistry*, 21560-6.
- [2]: Sarbu, M., et al. (2015). Identification and structural characterization of novel O- and N-glycoforms in the urine of a Schindler disease patient by Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 1044-1056.
- [3]: Hegde, N. R., Rao, P. P., Bayry, J., & Kaveri, S. V. (2009). Immunotherapy of viral infections. *Immunotherapy*, 691-711.
- [4]: Bradstreet, J., et al. (2012). Initial Observations of Elevated Alpha-N-Acetylgalactosaminidase Activity Associated with Autism and Observed Reductions from GC Protein—Macrophage Activating Factor Injections. *Autism Insights*, 31 - 38.
- [5]: Zoga, M., et al. (2016). Alteration of -N-acetylgalactosaminidase (nagalase) concentration in alcohol-dependent individuals without liver disease, during the detoxification therapy. *Drug and Alcohol Dependence*, 147-151.
- [6]: Yamamoto, N., Suyama, H., & Yamamoto, N. (2008). Immunotherapy for Prostate Cancer with Gc Protein-Derived Macrophage-Activating Factor, GcMAF. *Translational Oncology*, 65 - 72.

Promotoren / Copromotoren: Dhr. Eugene Bosmans, ing. Bart Thewissen en ing. Liesbet Pauls