

*Przemysław Wielgat¹, Sławomir Pancewicz², Teresa Hermanowska-Szpakowicz²,
Maciej Kondrusik², Joanna Zajkowska², Sambor Grygorczuk², Janusz Popko³, Krzysztof Zwierz¹*

AKTYWNOŚĆ EGZOGLIKOZYDAZ LIZOSOMALNYCH W SUROWICY PACJENTÓW Z BORELIOZOWYM PRZEWLEKŁYM ZAPALENIEM STAWÓW

¹Zakład Biochemii Farmaceutycznej AM w Białymstoku
Kierownik: Krzysztof Zwierz

²Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji AM w Białymstoku
Kierownik: Teresa Hermanowska-Szpakowicz

³Klinika Ortopedii Dziecięcej DSK AM w Białymstoku
Kierownik: Janusz Popko

U 18 pacjentów Kliniki Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji AMB z przewlekłym boreliozowym zapaleniem stawów przed i po 4 tygodniach leczenia doksycykliną oznaczano w surowicy aktywność: N-acetylo- β -D-glukozoaminidazy (HEX), β -galaktozydazy i α -mannozydazy. Aktywność HEX była znamienne, a pozostałych enzymów nieznamienne wyższa niż w grupie kontrolnej (K). Po leczeniu aktywność obniżyła się do poziomu grupy kontrolnej z wyjątkiem HEX, gdzie pozostała nieznamienne wyższa niż w K. Aktywność HEX może być wykorzystana do oceny przebiegu i skuteczności leczenia boreliozowego przewlekłego zapalenia stawów.

Słowa kluczowe: borelioza, przewlekłe zapalenia stawów, egzoglikozydazy lizosomalne
Key words: Lyme borreliosis, chronic arthritis, lysosomal exoglycosidases

WSTĘP

Borelioza z Lyme (krętkowica kleszczowa, Lyme disease, Lyme borreliosis) jest przewlekłą, wieloukładową chorobą odzwierzęcą, przenoszoną przez kleszcze, wywołaną przez krętki *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana* określanych jako *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Krętki te wywołują boreliozę u ludzi, ssaków i ptaków z tym, iż *B. afzelii* najczęściej wykrywana bywa u gryzoni, a *B. garinii* u ptaków (1,2). Choroba może powodować wielosystemowe uszkodzenia różnych narządów i układów (2,3). Najczęściej rozpoznawanymi postaciami boreliozy z Lyme są rumień wędrujący, zapalenie stawów oraz neuroborelioza (2-5). Zapalenie stawów w następstwie zakażenia *B. burgdorferi* występuje zarówno we wczesnym, rozsianym, jak również w stadium przewlekłym boreliozy. W USA, gdzie zakażenie powoduje *B. burgdorferi sensu stricto*, u około

60% nieleczonych chorych z rumieniem wędrującym, występują przemijające objawy zapalenia jednego lub wielu stawów (2,6). Natomiast w Europie, gdzie czynnikiem wywołującym jest częściej *B. garinii* i *B. afzelii* zapalenie stawów obserwuje się tylko u 3% do 15% chorych (2).

Egzoglikozydazy lizosomalne znalazły zastosowanie w diagnostyce wątroby i nerek (7). N-acetylo- β -D-glukozaaminidaza (HEX), β -galaktozydaza i α -mannozydaza należące do grupy glikozydaz lizosomalnych hydrolizują łańcuchy cukrowe glikokoniugatów (glikolipidów, glikoprotein i glikozaaminoglikanów) (8). Pełnią kluczową funkcję w katabolizmie glikokoniugatów tkanki łącznej. N-acetylo- β -D-glukozaaminidaza jest najaktywniejszym enzymem spośród glikozydaz (8). Jej obecność stwierdzono w wielu narządach, m.in.: nerce (9), wątrobie (10), błonie śluzowej żołądka (11), mózgu (12), i płynach biologicznych, m.in.: krwi (13), moczu (7), płynie mózgowo-rdzeniowym i płynie stawowym (14). Obecność β -galaktozydazy i α -mannozydazy wykazano w tkankach i płynach biologicznych, jednak mają one niższą aktywność niż N-acetylo- β -D-glukozaaminidaza (11). Wzrost aktywności HEX u chorych z dolegliwościami stawowymi stwierdzono w płynie stawowym w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów (rzs) i urazach mechanicznych (14). Przypuszcza się, że glikozydazy lizosomalne uczestniczą w przyspieszonej degradacji proteoglikanów substancji międzykomórkowej tkanki łącznej. W patogenezie uszkodzenia narządu ruchu w przebiegu Lyme arthritis podkreśla się szczególną rolę metaloproteinaz i proteaz (15). Brak jest informacji o zachowaniu aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w przebiegu Lyme arthritis.

Celem naszej pracy jest ocena aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych w surowicy chorych z boreliozowym przewlekłym zapaleniem stawów.

MATERIAŁ I METODY

W Klinice Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji AM w Białymstoku analizowano 18 chorych w wieku od 18 do 72 lat ($x=46$ lat) z rozpoznaniem boreliozowego przewlekłego zapalenia stawów. Rozpoznanie choroby ustalono na podstawie wywiadu epidemiologicznego, obrazu klinicznego, wyników badań biochemicznych oraz serologicznych: wykrycia w surowicy krwi przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* w klasie IgM i/lub dynamiki narastania miana przeciwciał w klasie IgG testem immunoenzymatycznym ELISA, przy użyciu zestawu Borrelia recombinant IgM i IgG firmy Biomedica (Austria). Potwierdzenia obecności przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* w surowicy krwi dokonano metodą Western blot przy użyciu zestawów firmy Milenia blot Systems, DPC, Bierman Niemcy. Kontrolę stanowiło 20 zdrowych pracowników służby zdrowia w wieku od 25 do 65 lat ($x=45$ lat), u których w surowicy krwi nie stwierdzono przeciwciał przeciwko *B. burgdorferii*.

U wszystkich chorych przed i po zakończeniu 4-tygodniowego leczenia doxycykliną oznaczano w surowicy krwi aktywność: N-acetylo- β -D-glukozaaminidazy (HEX), β -galaktozydazy i α -mannozydazy. Aktywność HEX oznaczono metodą Chatthjerjee i wsp. (16) w modyfikacji Zwierza i wsp. (11). Do 50 μ l badanej surowicy dodano 250 μ l 0,1M buforu fosforanowo-cytrynianowego o pH 4,7 i 150 μ l substratu (p-nitrofenolo-N-acetylo- β -glukozaaminid, Sigma, USA). Próby inkubowano przez 60 min. w 37°C. Reakcję enzymatyczną zatrzymywano dodając 1 ml 0,2M buforu boranowego, pH 9,8. Miarą aktywności HEX był przyrost stężenia p-nitrofenolu uwolnionego z substratu, mierzony spektrofotometrycznie

przy długości fali 410 nm. Aktywność β -galaktozydazy i α -mannozydazy oznaczono przy użyciu specyficznych substratów: p-nitrofenolo- β -D-galaktopiranozydu dla β -galaktozydazy i p-nitrofenolo- α -D-mannopiranozydu dla mannozydazy (Sigma, USA). Do 50 μ l surowicy dodano 250 μ l 0,1M buforu fosforanowo-cytrynianowego, pH 4,3 i 150 μ l substratu. Próby inkubowano w temperaturze 37°C przez 60 min. Reakcję przerywano przez dodanie 1 ml 0,2M buforu boranowego, pH 9,8. Absorbancję uwolnionego p-nitrofenolu zmierzono przy długości fali 410 nm. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu pakietu statystycznego Statistica 6.0. W obliczeniach przyjęto poziom istotności $p < 0,05$ jako znamiennej statystycznie.

WYNIKI

W grupie kontrolnej w surowicy wykazano średnią aktywność heksozaminidazy $x = 11,37$ pKat / 50 μ l surowicy, β -galaktozydazy $x = 0,83$ pKat/50 μ l surowicy i α -mannozydazy $x = 0,89$ pKat/50 μ l surowicy.

W grupie chorych z Lyme arthritis w I badaniu – przed leczeniem doxycykliną – aktywność HEX w surowicy wynosiła średnio $x = 14,52$ pKat/50 μ l surowicy, i była znamiennej wyższa $p < 0,05$ niż w surowicy osób z grupy kontrolnej (tab. I). W II badaniu, wykonanym po zakończeniu 4 tygodniowej antybiotykoterapii, aktywność HEX uległa obniżeniu, nadal jednak pozostając nieznacznie wyższa ($x = 13,04$ pKat/50 μ l surowicy) niż w grupie kontrolnej.

W I badaniu aktywność β -galaktozydazy w surowicy krwi chorych z Lyme arthritis wynosiła średnio $x = 0,88$ pKat/50 μ l surowicy. Po leczeniu doxycykliną w II badaniu jej aktywność obniżyła się osiągając średnią wartość $x = 0,84$ pKat/50 μ l surowicy.

Aktywność α -mannozydazy w I badaniu przed leczeniem doxycykliną wynosiła średnio $x = 0,95$ pKat/50 μ l surowicy. W badaniu II po 4 tygodniowej terapii jej aktywność uległa obniżeniu i wynosiła średnio 0,84 pKat/50 μ l surowicy.

DYSKUSJA

Patogeneza boreliozowego zapalenia stawów jest wieloczynnikowa, a przebieg choroby zależy od liczby krętków w zaatakowanych narządach, zjadliwości krętka oraz odpowiedzi immunologicznej organizmu (3, 17). Badanie histopatologiczne błony maziowej stawów w Lyme arthritis wykazuje podobne zmiany jak w innych rodzajach zapalenia stawów w tym również reumatoidalnym zapaleniu stawów. Cechą charakterystyczną Lyme arthritis, niespotykaną w innych stanach zapalnych są widoczne złoże fibryny i endoarteritis obliterans w błonie maziowej stawów (6). Natomiast zaburzenia immunologiczne w przebiegu tych dwóch chorób są podobne. Predyspozycje do zapaleń reumatoidalnego i przewlekłego boreliozowego mają osoby z MHC i HLA-DRA, DRB1*0401 (Dw4, Dw14) HLA DR1 (DRB10101) (3,6). W obrębie stawów objętych boreliozowym zapaleniem wykazano zarówno obecność *B. burgdorferi* jak i jej materiału genetycznego. DNA *B. burgdorferi* częściej stwierdzano w błonie maziowej niż w płynie stawowym (18). Priem i wsp. (19) u chorych z nawracającym zapaleniem stawów wykazywali DNA krętka jedynie w błonie maziowej. Wskazuje to na możliwość przetrwania krętka *B. burgdorferi* wewnątrz stawów, mimo leczenia antybiotykami, co w konsekwencji jest przyczyną długotrwałej stymulacji stanu zapalnego.

Tabela I. Aktywność N-acetylo- β -D-glukoaminydazy (HEX), α -mannozydazy i β -galaktozydazy w surowicy krwi chorych z boreliozą pod postacią przewlekłego zapalenia stawów przed i po leczeniu oraz w grupie kontrolnej

Table I. N-acetyl- β -D-glucosaminidase (HEX), α -mannosidase and β -galactosidase serum activity of patients with chronic Lyme arthritis, before and after treatment

Enzym / Enzyme (pKat/50 μ l surowicy / serum)	Badanie 1 / Examination 1 n=18			Badanie 2 / Examination 2 n=18			Badanie 1 / Examination 1 vs Badanie 2 / Examination 2			Grupa kontrolna / Control group n=20			Badanie 1 / Examination 1 vs Grupa kontrolna / Control group		Badanie 2 / Examination 2 vs Grupa kontrolna / Control group		
	min- -max	x	SD	min- -max	x	SD	min- -max	x	SD	min- -max	x	SD	min- -max	x	SD	min- -max	x
N-acetylo- β -D- glukoamini- daza / N-acetylo- β -D- glucosamini- dase (HEX)	7,0- -25,2	14,52	4,06	8,55- -21,20	13,04	3,42	7,25- -13,5	11,37	1,64	\downarrow p=0,139	\uparrow p=0,001*	\uparrow p=0,273					
α -mannozy- daza / α -mannosidase	0,3- -1,95	0,95	0,36	0,15- -1,4	0,84	0,35	0,45- -1,65	0,89	0,33	\downarrow p=0,670	\uparrow p=0,663	\downarrow p=0,963					
β -galaktozy- daza / β -galactosidase	0,15- -1,5	0,88	0,34	0,25- -1,45	0,84	0,41	0,25- -1,25	0,83	0,29	\downarrow p=0,906	\uparrow p=0,489	\uparrow p=0,942					

\uparrow/\downarrow obniżenie/ wzrost aktywności enzymu w surowicy krwi decrease/increase of enzyme serum activity

* istotność statystyczna statistical significance

Dolegliwości ze strony narządu ruchu u chorych z boreliozą z Lyme najczęściej dotyczą dużych stawów, zwłaszcza kolanowych, następnie stawów barkowych i łokciowych. Stosunkowo często zajęte są stawy skroniowo-żuchwowe, natomiast do rzadkości należą dolegliwości ze strony drobnych stawów dłoni i stóp. Epizody ostrego boreliozowego zapalenia stawów z towarzyszącym bolesnym obrzękiem, rzadziej ze wzmożonym ociepleniem i zaczerwienieniem, najczęściej dotyczące asymetrycznych, pojedynczych, dużych stawów, mogą utrzymywać się kilka tygodni. Rzadko obserwuje się symetryczne zapalenie wielostawowe. Choroba ma najczęściej charakter samoograniczający się, ale może przechodzić w postać przewlekłą prowadzącą do trwałej destrukcji stawów. Dolegliwości ze strony narządu ruchu mogą także objawiać się przewlekłymi, wędrującymi bólami mięśni, przyczepów i pochewek ścięgniowych. W literaturze znane są opisy zapalenia mięśni w przebiegu boreliozy przebiegającego łagodnie z miejscową mialgią i/lub zanikami mięśniowymi, jak również uogólnionymi bólami mięśniowymi i znacznym osłabieniem mięśni szkieletowych (3,17,20,21).

Wg Zimmermann-Górskiej (21) zapalenie stawów rozwija się u około 60% osób w okresie od kilku tygodni do 2 lat od zakażenia, w tym po upływie około 6 miesięcy u 60% osób nieleczonych i 30% leczonych. Pancewicz i wsp. (4) wykazali, iż w populacji 1765 osób pochodzących z rejonu endemicznego występowania choroby z Lyme, zmiany mięśniowo-stawowe rejestrowano u 4,9% badanych, w tym u 2,6% było to ostre zapalenie stawów. Jednak wśród 418 osób z tej populacji mających w surowicy przeciwciała przeciwko *B. burgdorferi*, dolegliwości ze strony układu ruchu zgłaszało aż 20,8% badanych.

U większości chorych z boreliozowym zapaleniem stawów leczenie antybiotykami jest skuteczne. Jednak u około 10% chorych, mimo antybiotykoterapii proces chorobowy przechodzi w postać przewlekłą (6). Obserwacje własne wykazały u 46% badanych chorych istnienie zmian w narządzie ruchu, potwierdzonych badaniem radiologicznym i wynikami badań serologicznych; miały one charakter przewlekły (20).

W surowicy krwi pacjentów z Lyme arthritis przed leczeniem farmakologicznym wykazano znamienne wzrost aktywności HEX i tendencję do wzrostu aktywności β -galaktozydazy i α -mannozydazy. Po leczeniu farmakologicznym aktywność HEX, mimo obniżenia się, była nieznamiennie wyższa niż w grupie kontrolnej. Aktywność β -galaktozydazy i α -mannozydazy po leczeniu osiągnęła wartości zbliżone do grupy kontrolnej. Egzoglikozydazy lizosomalne należą do czułych wskaźników uszkodzenia tkanek. Analiza enzymów uczestniczących w rozkładzie glikoprotein i proteoglikanów wykazała wzrost aktywności glikozydaz w różnych typach uszkodzeń stawów. Znamienne wzrost aktywności HEX stwierdzono w płynach stawowych u chorych z rzs i urazami mechanicznymi (14). Wykazano także wzrost aktywności β -galaktozydazy i α -mannozydazy (22, 24). Aktywność HEX w surowicy grupy kontrolnej, chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów i osteoartrozą utrzymywała się na podobnym poziomie, co może sugerować zaangażowanie tych enzymów w miejscowym procesie uszkodzenia stawu. W modelu doświadczalnym na szczurach z wywołanym arthritem wykazano wzrost niektórych glikozydaz w płynie stawowym i surowicy. Spadek aktywności uzyskano po podaniu niesteroidowych leków przeciwzapalnych (indometacyna, aspiryna, brufen) oraz prednizolonu (25).

Wzrost aktywności egzoglikozydaz lizosomalnych uzależniony jest od toczących się w organizmie procesów chorobowych. W zakażeniach krętkiem *B. burgdorferii* powikłanych zmianami stawowymi, wzrost aktywności poszczególnych glikozydaz może być od-

zwierciedleniem metabolizmu glikokoniugatów tkanki łącznej. Wydzielanie N-acetylo- β -D-glukozaaminidazy stymulowane jest przez niektóre cytokiny np. IL-1 β (26), których podwyższone stężenie w surowicy krwi obserwuje się w przebiegu Lyme arthritis zarówno przed jak i po antybiotykoterapii. W stanach zapalnych stawów obserwuje się zwiększenie ilości płynu stawowego i jego ciśnienia. Zjawisko to może być powodem upośledzenia przepływu krwi w naczyniach położonych w obrębie stawu i wzrostu przepuszczalności ich ścian. Klirens HEX i innych egzoglikozydaz ze stawów objętych stanem zapalnym jest wielokierunkowy (27). Enzymy lizosomalne mogą więc przenikać do naczyń krwionośnych, co uwidacznia się w podwyższonej aktywności tych enzymów w surowicy krwi chorych z Lyme arthritis.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

1. W surowicy krwi chorych z Lyme arthritis przed leczeniem doxycykliną aktywność N-acetylo- β -glukozaaminidazy (HEX) była znamienne wyższa niż w grupie kontrolnej, a po 4-tygodniowej antybiotykoterapii obniżyła się, pozostając jednak nieznamiennie wyższa niż w grupie kontrolnej.
2. Aktywność β -galaktozydazy i α -mannozydazy w surowicy krwi chorych z Lyme arthritis przed leczeniem była nieznamiennie wyższa niż grupie kontrolnej. Po leczeniu doxycykliną aktywność enzymów spadła do poziomu grupy kontrolnej.
3. N-acetylo- β -D-glukozaaminidaza jest czułym wskaźnikiem enzymatycznym w przebiegu boreliozowego przewlekłego zapalenia stawów, co może być wykorzystane do oceny przebiegu i leczenia boreliozowego zapalenia stawów.

*P Wielgat, S Pancewicz, T Hermanowska-Szpakowicz, M Kondrusik, M Zajkowska,
S Grygorczuk, J Popko, K Zwierz*

ACTIVITY OF LISOSOMAL EXOGLYCOSIDASES IN SERUM OF PATIENTS WITH CHRONIC BORRELIA ARTHRITIS.

SUMMARY

To estimate activities of lisosomal exoglycosidases in serum of patients with chronic borrelia arthritis.

Study group consisted of 18 patients aged 18-72 years (\bar{x} =46) hospitalized in Department of Infectious Diseases and Neuroinfections of Medical Academy in Białystok with diagnosis of chronic arthritis in course of borreliosis. Control consisted of 20 healthy volunteers (health services employees) aged 25-65 years (x =45), with no detectable anti-Borrelia burgdorferi antibodies in serum. In all borreliosis patients serum activity of: N-acetylo- β -D-glucosaminidase (HEX), β -galactosidase and α -mannosidase was measured before and after 4 weeks of doxycycline treatment. Results were analyzed with Statistica 6.0 software. $P < 0,05$ was considered statistically significant.

HEX activity was significantly increased in serum of Lyme arthritis patients before treatment compared to controls. It decreased after 4-week treatment, remaining insignificantly higher than in controls. β -galactosidase and α -mannosidase activities in serum of Lyme arthritis patients were insignificantly higher than in controls and fell after treatment to the levels observed in control group.

N-acetylo- β -D-glucosaminidase (HEX) is sensitive enzymatic marker of Lyme arthritis. It may be used to monitor course of the disease and its efficiency of treatment.

PIŚMIENNICTWO

1. Pancewicz SA, Kondrusik M, Zajkowska J, Hermanowska-Szpakowicz T. Epidemiologia choroby z Lyme. *Medycyna Pracy* 1999;4:315-20.
2. Wang G, van Dam AP, Schwartz I, Dankert J. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:633-53.
3. Sigal LH. Lyme disease: A review of aspects of its immunology and immunopathogenesis. *Ann Rev Immunol* 1997;15:63-92.
4. Pancewicz SA, Januszkiewicz A, Hermanowska-Szpakowicz T. Obecność przeciwciał przeciwko *Borrelia burgdorferi* wśród mieszkańców północno-wschodniej Polski. *Przegl Epidemiol* 1996;4:375-81.
5. Pancewicz SA, Januszkiewicz A, Hermanowska-Szpakowicz T. Postacie kliniczne boreliozy z Lyme w materiale własnym. *Klinika* 1997;8:420-3.
6. Akin E, Aversa J, Steere AC. Expression of adhesion molecules in synovia of patients with treatment-resistant Lyme arthritis. *Infect Immun* 2001;69:1774-80.
7. Zoch-Zwierz W. Aktywność N-acetylo-β-D-glukozaaminidazy (NAG) w surowicy krwi i moczu dzieci z nerczycą lipidową. *Pol Tyg Lek* 1982;37:333-6.
8. Ostrowska L, Zwierz K, Koniusz Z, Gindziński A. Rola, właściwości i znaczenie kliniczne N-acetylo-β-heksozaaminidazy. *Post Hig Med Dośw* 1993;47:67-79.
9. Ellis BG, Price RG. Urinary enzyme excretion during renal papillary necrosis induced in rats with ethylenamine. *Chem Biol Interact* 1975;11:473-6.
10. Lityńska A. The influence of inverted illumination phases on the rhythm of activity of beta-acetylglucosaminidase in the mouse liver. *Folia Biol* 1981;29:201-9.
11. Zwierz K, Gindziński A, Głowacka D, Porowski T. The degradation of glycoconjugates in the human gastric mucous membrane. *Acta Med Hung* 1981;38:145-52.
12. Khawaya JA, Selinger OZ. Neuronal N-acetyl-β-glucosaminidase. Evidence for its biosynthesis in vitro. *Bioch J* 1976;158:513-27.
13. Ikonne BJU, Ellis RB. N-acetyl-beta-D-hexosaminidase component A. Different forms in human tissues and fluids. *Biochem J* 1973;135(3):457-62.
14. Popko J, Zalewska A, Brycka R, Macias T, Knaś M, Zwierz K. Activity of N-acetyl-β-hexosaminidase and its isoenzymes in joint fluid from a knee with an injured anterior cruciate ligament. *Biol Sport* 2002;19:43-9.
15. Hu LT, Eskildsen MA, Masgala C. Host metalloproteinases in Lyme arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44:1401-10.
16. Chatterjee S, Velicer LL, Sweeley CC. Glycosphingolipid glycosyl hydrolases and glycosidases of synchronized human KB cells. *J Biol Chem* 1975;250:4972-9.
17. Steere AC, Gross D, Meyer AL, Huber BT. Autoimmune mechanism in antibiotic treatment-resistant Lyme arthritis. *J Autoimmun* 2001;16:263-8.
18. Jaulhac B, Chary-Valckenaere I, Sibilis J, Javier RM, Piemont Y, Kuntz JL, Monteil H, Pourel J. Detection of *Borrelia burgdorferi* by DNA amplification in synovial tissue samples from patients with Lyme arthritis. *Arthr Rheum* 1996;39:736-45.
19. Priem S, Burmester GR, Kamradt T, Wolbart K, Ritting MG, Krause A. Detection of *Borrelia burgdorferi* by polymerase chain reaction in synovial membrane, but not in synovial fluid from patients with persisting Lyme arthritis after antibiotic therapy. *Ann Rheum Dis* 1998;57:118-21.
20. Zajkowska J, Pancewicz S, Łzycka A, Łukjan W, Hermanowska-Szpakowicz T. Zmiany z narządzie ruchu u osób z obecnością przeciwciał przeciwko *Borrelia burgdorferi* – obserwacje własne. *Reumatol* 1997;35:129-38.
21. Zimmermann-Górska I. Zapalenie stawów w przebiegu choroby z Lyme. W: Borelioza Choroba z Lyme. Materiały Polsko-Litewskiej Konferencji Naukowej. Poznań 13 listopada 1993 pod red W. Kocięckiej, A. Szaradkiewicz, s 46-54.

22. Bartholomew BA, Perry AL. Alpha-mannosidase activity in synovial fluid. *Acta Rheumatol Scand* 1970;16 (4):304-10.
23. Illic MZ, Mandley CJ, Robinson HC, Mok MT. Mechanism of catabolism of aggrecan by articular cartilage. *Arch Biochem Biophys* 1992;294(1):115-22.
24. Krishnan B, Mody DR, Ramzy I. Alpha-mannosidosis. Report of a case with morphologic, cytologic and immunohistochemical considerations. *Acta Cytol* 1994;38(3):441-5.
25. Iusipowa NA. Hydrolytic enzymes in biological fluids and skeletal muscle of rats with adjuvant arthritis. *Vopr Med Khim* 1978;24(3):362-8.
26. Clarris BJ, Fraser JR, Ash P, Leizer T, Hamilton JA. Interleukin-1-beta and interleukin-1-alpha stimulate the N-acetyl-beta-glucosaminidase activity of human synovial cells. *Rheumatol Int* 1987; 7:271-5.
27. Wallis WJ, Simkin PA, Nelp WB. Protein traffic in human synovial effusions. *Arthritis Rheum* 1987;30:57-63.

Otrzymano: 27.12.2003 r.

Adres autorów

Sławomir A. Pancewicz
Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji
Akademii Medycznej w Białymstoku
ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok
tel. (0-85) 740 95 14, fax (0-85) 740 95 15
e-mail: neuroin@amb.edu.pl