

Informationen zum „Nagalase-Test“

- 1. Zusammenfassung**
- 2. Was ist „Nagalase“?**
- 3. Wie stellt man sich die Inaktivierung von Gc-MAF durch Nagalase vor?**
- 4. „Nagalase-Test“: Was ist das?**
- 5. Ich möchte den Nagalase-Test durchführen lassen?
Wie geht das?**
- 6. Was kostet der Test und wie wird der Test abgerechnet?**
- 7. Künstlich hergestellter Gc-MAF zur Behandlung von
Erkrankungen**
- 8. Welche weiteren Mess-Werte können bei einer Gc-MAF-
Therapie noch von Bedeutung sein?**
- 9. Wissenschaftliche Literatur**
- 10. Erklärung wichtiger Begriffe**
- 11. Hinweise zur Proben-Gewinnung für den Nagalase-Test**
- 12. Hinweise zur Zentrifugation von Gel-Monovetten**

Weitere Informationen im Internet

unter:

www.nagalase-test.de

1. Zusammenfassung

- Nagalase ist ein körpereigenes Enzym im Zuckerstoffwechsel.
- Tumor-Zellen können Nagalase bilden.
- **Gc-MAF** ist ein Makrophagen-aktivierender (**immunstimulierender**) Faktor.
- GcMAF wird aus Gc-Protein gebildet.
- **Die von Tumoren gebildete Nagalase kann die Bildung des immunstimulierenden Faktors Gc-MAF aus Gc-Protein verhindern.**
- Künstlich hergestelltes Gc-MAF wird als immunstimulierende Substanz eingesetzt.
- **Der Nagalase-Test wird durchgeführt, um zu prüfen, ob eine Gc-MAF Therapie sinnvoll sein könnte („Therapie-Indikation“) und um die Wirkung einer Gc-MAF-Therapie zu verfolgen („Monitoring“).**
- Weitere Mess-Werte können bei einer Gc-MAF Therapie von Bedeutung sein: **Vitamin D-Spiegel** und **Calcium-Wert im Blut**, die **genetische Variante des Vitamin D-Rezeptors** und der Serum-Spiegel des **löslichen uPA-Rezeptors**.

2. Was ist „Nagalase“?

Die sog. „Nagalase“ ist ein körpereigenes Enzym, welches im Zucker-Stoffwechsel eine Rolle spielt. Der wissenschaftlich korrekte Name ist „**N-Acetyl-Galaktosaminidase**“. Nagalase kann bestimmte Zucker-Moleküle, nämlich das sog. N-Acetyl-Galaktosamin, aus großen Molekülen abspalten.

Yamamoto und Kollegen konnten zeigen, dass Tumore vermehrt Nagalase ausschütten. Entsprechend wurde auch gefunden, dass Tumor-Erkrankungen mit einem erhöhten Nagalase-Wert im Serum verknüpft sind („Tumor-Marker“). Aber auch bei einigen anderen Erkrankungen wurden erhöhte Nagalase-Werte gefunden.

Der von Tumoren produzierten Nagalase wurde eine unterdrückende Wirkung auf das Immunsystem zugeschrieben; medizinisch als „immun-supprimierende Wirkung“ bezeichnet. Die Nagalase-vermittelte Immun-Suppression bei Tumorerkrankungen trägt vermutlich dazu bei, das Wachstum des bestehenden Tumors und die Ausbildung von Metastasen zu fördern.

Die immunsupprimierende Wirkung von Nagalase wird dadurch erklärt, dass Nagalase die Bildung des immunstimulierenden Faktors Gc-MAF aus Gc-Protein verhindert. „MAF“ steht für „Makrophagen-Aktivierender Faktor“. Makrophagen sind sog. „Fress-Zellen“ der Immun-Abwehr.

3. Wie stellt man sich die Inaktivierung von Gc-MAF durch Nagalase vor?

Gc-MAF wird aus Gc-Protein gebildet.

Durch das Enzym „Nagalase“ wird die Zucker-Seitenkette des Gc-Proteins komplett abgespalten: das derart veränderte Gc-Protein kann nicht mehr in Gc-MAF überführt werden.

Mit anderen Worten: Die Wirkung von Nagalase auf Gc-Protein führt dazu, dass Gc-MAF nicht mehr gebildet werden kann.

Insofern wird der durch Tumoren gebildeten Nagalase eine immunsupprimierende Wirkung zugesprochen; also eine Wirkung, die zur Unterdrückung einer Immunantwort führt.

4. „Nagalase-Test“: Was ist das?

Es gibt Testverfahren, mit denen die **Aktivität der Nagalase im Serum** bestimmt werden kann. Dabei wird aus einer Serumprobe die Nagalase isoliert und die Enzym-Aktivität vermessen.

Diese Verfahren bezeichnet man als „Nagalase-Test“.

Erhöhte Nagalase-Werte im Blut wurden bei vielen Erkrankungen, insbesondere aber bei Tumor-Erkrankungen beschrieben.

Erhöhte Nagalase-Werte werden zur Entscheidung für eine Gc-MAF-Therapie herangezogen („Therapie-Indikation“).

Ein Abfall der Nagalase-Werte wird als Hinweis auf einen Therapie-Erfolg, insbesondere bei der Therapie mit Gc-MAF, gewertet („Therapie-Monitoring“).

5. Ich möchte den Nagalase-Test durchführen lassen? Wie geht das?

Für den Test wird eine **Blutprobe (Serum)** abgenommen und eingeschickt. Hinweise zur Proben-Abnahme finden Sie weiter unten.

Ein Anforderungsformular für die eigentliche Untersuchung finden Sie am Ende der Broschüre.

6. Was kostet der Test und wie wird der Test abgerechnet?

Die Abrechnung erfolgt für Privatpatienten nach der amtlichen Gebührenordnung für Ärzte (GOÄ).

Leider wird dieser Test zurzeit von gesetzlichen Krankenkassen nicht übernommen und muss ggf. vom Patienten selbst bezahlt werden. Der Preis für Selbstzahler beträgt € 67,04 und entspricht dem einfachen Satz der GOÄ.

7. Künstlich hergestellter Gc-MAF zur Behandlung von Erkrankungen

Nachdem die Makrophagen-aktivierende Wirkung des Gc-MAF beschrieben worden war, wurden auch Verfahren entwickelt, um Gc-MAF künstlich herzustellen und als immun-stimulierende Substanz anzuwenden.

Dabei profitiert dieser Therapie-Ansatz davon, dass künstlich hergestelltes Gc-MAF von der Serum-Nagalase **nicht** abgebaut werden kann.

Man hat deshalb Therapieverfahren entwickelt, bei denen GcMAF künstlich im Labor (in vitro) hergestellt wird und dann Patienten verabreicht wird.

8. Welche weiteren Mess-Werte können bei einer Gc-MAF-Therapie noch von Bedeutung sein?

Vitamin D-Spiegel und Serum Calcium

Die optimale Wirkung einer Gc-MAF-Therapie scheint abhängig zu sein von einem optimalen Vitamin D-Spiegel. Empfohlen werden Werte zwischen 30 und 70 µg/L.

Insofern wird empfohlen vor Gc-MAF-Therapie den Vitamin-D-Wert im Serum zu bestimmen und ggf. eine Therapie mit der Gabe von Vitamin D zu ergänzen.

Parallel wird empfohlen, die Serum-Calcium Werte zu bestimmen, um bei einem erhöhten Serum-Calcium-Spiegel die Vitamin D-Dosis zu reduzieren.

Genetik des Vitamin D-Rezeptors (VDR)

Von einigen Autoren wurde beschrieben, dass die Wirkung von Gc-MAF von genetischen Varianten des Vitamin-D-Rezeptors abhängt; den sog. „VDR-Genotypen“. Insbesondere die VDR-Varianten „Fok 1“ und „Bsm1“ wurden untersucht.

Am besten scheint der Genotyp FF/bb auf eine Gc-MAF-Therapie anzusprechen, gefolgt von Ff/Bb. Der Genotyp Ff/BB scheint am schlechtesten anzusprechen.

Die Information zum VDR-Genotyp wurde deshalb bei der Gc-MAF-Therapie für die Festlegung der Dosis herangezogen.

uPA-Rezeptor (uPA-R) im Serum

Es gibt Publikationen, die eine Rolle des sog. „uPA-Rezeptors“ (uPA-R) bei dem invasiven Wachstum von Tumoren und der Bildung von Metastasen nahelegen. Der Serumspiegel von löslichem uPA-R wurde als Prognose-Faktor für Tumoren beschrieben.

Insbesondere wurde ein Zusammenhang zwischen Gc-MAF-Wirkung und uPA-R bei Tumoren beschrieben: Gc-MAF reduzierte die Menge des von Tumorzellen freigesetzten uPA-R.

Einige Wissenschaftler empfehlen deshalb die Bestimmung des uPA-R im Serum im Rahmen einer Gc-MAF Therapie bei Tumorerkrankungen.

Genetik des Gc-Proteins

Auch für das Gc-Protein werden genetische Varianten beschrieben. Inwieweit diese bei der Optimierung einer Gc-MAF-Therapie eine Rolle spielen ist noch Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen.

9. Literatur

Yamamoto et al.

Immunotherapy for prostate cancer with Gc-protein-derived macrophage-activating factor, gcMAF
Transl Oncol (2008a) 1: 65-72

~~Yamamoto et al.~~

~~Immunotherapy of metastatic colorectal cancer with vitamin D binding protein derived macrophage activating factor, GcMAF
Cancer Immunol Immunother (2008b) 57: 1007-1016~~

Diese Arbeit wurde vom Editor-In-Chief der Zeitschrift zurückgezogen "due to irregularities in the documentation for institutional review board approval"

~~Yamamoto et al.~~

~~Immunotherapy of metastatic breast cancer patients with vitamin D binding protein derived macrophage activating factor (GcMAF)
Int J Cancer (2008c) 122: 461-467~~

Diese Arbeit wurde vom Editor-In-Chief der Zeitschrift zurückgezogen "due to irregularities in the documentation for institutional review board approval"

Thyer et al.

A novel role for a major component of the vitamin D axis: vitamin D binding protein-derived macrophage activating factor induces human breast cancer cell apoptosis through stimulation of macrophages
Nutrients (2013) 5: 32577-2589

Korbelik et al.

The value of serum alpha-N-acetylgalactosaminidase measurement for the assessment of tumor response to radio- and photodynamic therapy
Br J Cancer (1998) 77(6): 1009-1014

Wang et al.

Schindler Disease: the molecular lesion in the alpha-N-acetylgalactosaminidase gene that causes an infantile neuroaxonal dystrophy
J Clin Invest (1990) 86: 1752-1756

Reddi et al.

Serum alpha-N-acetylgalactosaminidase is associated with diagnosis/prognosis of patients with squamous cell carcinoma of the uterine cervix
Cancer Letters (2000) 158: 61-64

Kisker et al.

Vitamin D binding protein-macrophage activating factor (DBP-*maf*) inhibits angiogenesis and tumor growth in mice
Neoplasia (2003) 5: 32-40

Saharuddin et al.

Tumor cell alpha-N-acetylgalactosaminidase activity and its involvement in GcMAF-related macrophage activation
Comparative Biochemistry and Physiology Part A (2002) 132: 1 – 8

Thyer et al.

Therapeutic effects of highly purified de-glycosylated GcMAF in the immunotherapy of patients with chronic diseases
Am J Immunol (2013) 9: 78-84

Gregory et al.

Vitamin D binding protein-macrophage activating factor directly inhibits proliferation, migration, and uPAR expression of prostate cancer cells
PLoS ONE (2010) 5: e13428

Benis and Schneider

The effects of vitamin D binding protein-macrophage activating factor and colony-stimulation factor-1 on hematopoietic cells in normal and osteopetrotic rats
Blood (1996) 88: 2898 -2905

Fabris et al.

Role of angiotensin-converting enzyme and vitamin D receptor gene polymorphisms in cancer anorexia-cachexia syndrome
Am J Immunol (2012) 8: 65-70

Uto et al.

GcMAF: our next-generation immunotherapy
Nature (2012) 485: S67-S70

Nagasawa et al.

Association of the macrophage activating factor (MAF) precursor activity with polymorphism in vitamin D-binding protein
Anticancer Res (2004) 24: 3361-3366

Thyer et al.

Gc protein-derived macrophage-activating factor decreases alpha-N-acetylgalactosaminidase levels in advanced cancer patients
OncoImmunology (2013) 2: e25769

Kuchiike et al.

Degalactosylated/desialylated human serum containing GcMAF induced macrophage phagocytic activity and in vivo antitumor activity
Anticancer Res (2013) 33: 2881-2886

Inui et al.

Clinical experience of intergrative cancer immunotherapy with GcMAF
Anticancer Res (2013) 33: 2917-2920

Yamamoto et al.

Prognostic utility of serum alpha-N-acetylgalactosaminidase and
immunosuppression resulted from deglycosylation of serum Gc protein in oral
cancer patients
Cancer Res (1997) 57: 295-299

10. Erklärung wichtiger Begriffe

Bsm1	Bsm1 bezeichnet eine genetische Variante des Vitamin D-Rezeptors. Für diese Variante sind drei Formen bekannt: BB, Bb, bb.
DBP	s. Gc-Protein
Galaktosamin	Ein chemisch definiertes Zucker-Molekül. http://de.wikipedia.org/wiki/Galaktosamin
Galaktose	Ein chemisch definiertes Zucker-Molekül. http://de.wikipedia.org/wiki/Galactose
Galaktosidase	Ein Enzym, das Galaktose abspaltet.
Fok1	Fok1 bezeichnet eine genetische Variante des Vitamin D-Rezeptors. Für diese Variante sind drei Formen bekannt: FF, Ff, ff.
Gc-MAF	Auch vielfach als „GcMAF“ abgekürzt ist ein Makrophagen-aktivierender Faktor, der durch teilweise Abspaltung der Zucker-Seitenkette aus Gc-Protein gebildet wird. Aus der Trisaccharid-Seitenkette des Gc-Proteins wird Galaktose und Sialin-Säure, es verbleibt N-Acetylgalaktosamin.
GcMAF	s. Gc-MAF

Gc-Protein	Gc- Protein ist ein Serumprotein, welches die Fähigkeit besitzt Vitamin D zu binden. Aus diesem Grund wird es auch als Vitamin D-bindendes Protein (DBP) bezeichnet. Gc-Protein besitzt eine aus drei Zuckern bestehende Seitenkette; diese drei Zucker sind eine Galaktose, eine Sialinsäure und ein N-actely-galaktosamin. http://de.wikipedia.org/wiki/Vitamin-D-bindendes_Protein
GOÄ	Amtliche Gebührenordnung für Ärzte; gilt für die Leistungsabrechnung bei privat versicherten Patienten.
Immunsuppression	Suppression bedeutet Unterdrückung und Immunsuppression bezeichnet die Unterdrückung einer Immunantwort durch unterschiedliche Mechanismen, wie Krankheiten, Behandlung mit „immunsuppressiven“ Medikamenten oder bestimmte Umwelt-Einflüsse. Der von Tumor-Zellen gebildeten „Nagalase“ wird ebenfalls eine immunsuppressive Wirkung zugesprochen.
MAF	Abkürzung für M akrophagen- a ktivierender F aktor. Es gibt mehrere Faktoren die Makrophagen aktivieren können; Gc-MAF ist einer davon.
Makrophagen	Makrophagen (aus dem Griechischen frei übersetzt: „Große Fresser“) sind Fress-Zellen des Immunsystems und spielen eine Rolle bei einer Abwehr-Reaktionen des Körpers, insbesondere bei der Immun-Antwort. http://de.wikipedia.org/wiki/Makrophagen
Nagalase	Die sog. „Nagalase“ ist ein körpereigenes Enzym, welches im Zucker-Stoffwechsel eine Rolle spielt. Der wissenschaftlich korrekte Name ist „ N-Acetyl-Galaktosaminidase “. Nagalase kann bestimmte Zucker-Moleküle, nämlich das sog. N-Acetyl-Galaktosamin, aus großen Molekülen abspalten.
Sialidase	Ein Enzym, das Sialin-Säure abspaltet.
Sialin-Säure	Ein chemisch definiertes Zucker-Molekül. http://de.wikipedia.org/wiki/Sialins%C3%A4ure

VDR Abkürzung für **V**itamin **D**-**R**ezeptor. Der VDR ist ein zelluläres Molekül und bindet Vitamin D. Durch diese Bindung werden die Effekte des Vitamin D auf die Zelle vermittelt.

<http://de.wikipedia.org/wiki/Vitamin-D-Rezeptor>

uPA Abkürzung für **U**rokinase-typ **P**lasminogen **A**ktivator, auch als „Urokinase“ bezeichnet. Diesem Molekül wird eine Rolle zugesprochen bei dem invasiven Wachstum von Tumoren und der Bildung von Metastasen.

<http://de.wikipedia.org/wiki/Urokinase>

uPA-R Abkürzung für „uPA-Rezeptor“. Dieses Molekül auf der Oberfläche von Zellen - auch von Tumorzellen - bindet uPA und wird als ein wichtiges Molekül bei dem invasiven Wachstum von Tumoren und der Bildung von Metastasen angesehen.

Ein Teil des von Tumorzellen gebildeten uPA-R wird von der Tumorzelle freigesetzt und kann im Serum als sog. „löslicher uPA-R“ nachgewiesen werden. Der Serum-Spiegel des löslichen uPA-R wird als Tumor-Marker angesehen.

<http://de.wikipedia.org/wiki/Urokinase>

11. Hinweise zur Proben-Gewinnung für den Nagalase-Test

Der **Nagalase-Test** wird an einer **Serum-Probe** durchgeführt, wie in den Originalarbeiten von Yamamoto et al. (s.o. unter „Literatur“) beschreiben.

Für die Untersuchung ist **mindestens 1 ml Serum notwendig**.

Durch Venen-Punktion wird vom Patienten Vollblut abgenommen: aus dem Vollblut wird durch Gerinnung und anschließende Zentrifugation Serum gewonnen. Der Patient sollte **nüchtern** sein.

Um den **Einfluss einer transportbedingten Hämolyse zu vermeiden**, das Serum bitte nach Abnahme mit dem Serum-Röhrchen (z.B. **Serum-Gel-Monovette von Sarstedt oder Serum Vacutainer von BD**) und nach Zentrifugation **in ein neutrales Röhrchen überführen zum Verschicken**.

Serum Gel-Monovetten werden **10 Minuten bei 2.500 x g zentrifugiert** (Hinweise zur Zentrifugation s.u.)

WICHTIG: Trübe Seren (Lipide?) und hämolytische Seren (Rotfärbung) können im Nagalase-Test nicht analysiert werden. Deshalb empfiehlt sich (wie oben bereits erwähnt) die Abnahme beim nüchternen Patienten.

Die Serum-Gel-Monovetten sollten die ersten **15 Minuten nach der Blutentnahme stehend zur Gerinnung gelagert** werden, da es sonst zu einer „Wurst-Bildung“ kommt. Diese Wurst-Bildung verhindert – besonders bei starren Rotoren – bei der Zentrifugation die Ausbildung der Gel-Trennschicht und damit die optimale Trennung von Blutkuchen und Serum.

Prof. Dr. med. Michael Kramer
Facharzt für Laboratoriumsmedizin

Im Neuenheimer Feld 582
D-69120 Heidelberg
T: +49(0)6221 321 8888
M: +49(0)171 956 3808
E: info@mdkramer.de

Das abgefüllte **Serum bitte mit dem ausgefüllten Anforderungsschein** (s.u.) in einem stabilen Transport-Behälter per **Post** an folgende Adresse schicken:

**Praxis Prof. Dr. med. M. Kramer
Facharzt für Laboratoriumsmedizin
c/o MVZ Dermatohistopathologie HD
Postfach 103320
D-69023 Heidelberg**

Wenn Sie einen **Kurierdienst** nutzen, bitte weiterhin die Hausanschrift der Praxis angeben:

**Praxis Prof. Dr. med. M. Kramer
Facharzt für Laboratoriumsmedizin
c/o MVZ Dermatohistopathologie HD
Im Neuenheimer Feld 582
D-69120 Heidelberg**

**Kontakt:
Tel.: 06221 321 8888
Fax: 06221 321 8882**

12. Hinweise zur Zentrifugation von Gel-Monovetten

Die zur Erreichung der G-Zahl (relative Zentrifugalbeschleunigung [RZB]) notwendige Drehzahl hängt vom Radius der Zentrifuge ab. Wenn „r“ der Radius in cm und „n“ die Umdrehungen /min sind, gilt für die relative Zentrifugalbeschleunigung (RZB) in „g“ (DIN 58970-2) folgende Gleichung:

$$\text{RZB [g]} = 0,00001118 \times r \times n^2$$

So werden z.B. bei einer Labofuge 200 von Heraeus (Radius 9,65 cm) 2.500 x g etwa mit einer Drehzahl von 5.000/min erreicht.

Auf der Internetseite der Firma Sarstedt (www.sarstedt.com; Abb. 2 s.u.) finden Sie die Informationen zu den Abnahme-Röhrchen und einen Rechner, mit dem Sie die notwendige Drehzahl Ihrer Zentrifuge ermitteln können.

Nach der Zentrifugation sollte die Gel-Schicht über dem ganzen Blutkuchen liegen und keine Verbindung mehr zwischen Blutkuchen und Serum bestehen. Dies ist **bei Ausschwing-Rotoren immer gewährleistet**.

Bestehen nach der Zentrifugation Zweifel, ob die Gelschicht den Blutkuchen sicher vom Serum trennt, sollte das **Serum in ein neutrales Röhrchen umgefüllt** werden, durch abpipettieren oder abkippen. Dies wird insbesondere bei starren Rotoren empfohlen.

SARSTEDT
 Netzwerk für Partner in Medizin & Wissenschaft

	S-Monovette® Serum	10 Min.	2.000 x g	20°C
	S-Monovette® Serum-Gel*	10 Min.	2.500 x g	20°C
	S-Monovette® Li-Heparin	10 Min.	2.000 x g	20°C
	S-Monovette® Li-Heparin-Gel*	10 Min.	3.000 x g	20°C
	oder	15 Min.	2.500 x g	20°C
	S-Monovette® EDTA-Gel*	10 Min.	2.500 x g	20°C
	S-Monovette® Citrat	10 Min.	1.800 x g	20°C

*Für Gelpräparate S-Monovetten empfehlen wir ausschließlich die Verwendung von Ausziehgeräten.

SARSTEDT
 Netzwerk für Partner in Medizin & Wissenschaft

Kategorie: Labor / Verbrauchsmaterialien / Zentrifugen und Röhren

Zentrifugationsrechner

Bei der Arbeit mit Röhren und Gefäßen aus Kunststoff werden oftmals Empfehlungen gegeben, wie diese zentrifugiert werden sollen.
 Mit Hilfe dieses Programms haben Sie die Möglichkeit, die notwendige Umdrehungsgeschwindigkeit oder die relative Zentrifugalbeschleunigung (RZB) zu ermitteln, wenn Ihnen der Radius Ihrer Zentrifuge und einer der beiden anderen Werte bekannt ist.
 Für die Berechnung eines fehlenden Wertes geben Sie die beiden bekannten Werte bitte hier ein und drücken Sie "Start".

Radius r der Zentrifuge: cm

Umdrehungen n : min^{-1}

Relative Zentrifugalbeschleunigung RZB : g

Nähere Informationen zur Ermittlung des Zentrifugenradius finden Sie [hier](#).
[Zentrifugationsempfehlungen S-Monovette®](#)

Prozesse - Produktberatung

© 2003-2012 SARSTEDT AG & Co. - www.sarstedt.com - Technische Änderungen und Irrtümer vorbehalten. Version 0110

Quelle: www.sarstedt.com