

**AKUT MYELOMONOSİTİK LÖSEMİLİ HASTALARIN
SERUM VE İDRARLARINDA LYSOZYME
(MURAMİDASE) AKTİVİTESİ**

Dr. F. FUAT (*)

Dr. A. ARCASOY ()**

Dr. A. O. ÇAVDAR (*)**

A. Fleming'in 1922'de Lysozyme (LZM) ismini verdiği bakteriyolojik enzimi buluşu, hemen kısa bir süre sonra penicillinin keşfinin yarattığı geniş yankı yanında fazla ilgi çekmedi. Ancak 50 yıl sonra, LZM özellikle hematoloji alanında, çok sayıda araştırmalara konu oldu.

LZM bakteriyolitik, küçük molekülü bir proteindir. Plazma ve serumda, tükürük, gözyaşı, bronşiyal sekresyon gibi dışarı ile direkt ilgisi olan sıvılarda, Kolosturum, kan hücresi içinde (Granülosit ve onların prekürsörleri) monosit ve makroajlarda, Kartilâj ve renal tübüler hücrelerde varlığı gösterilmiştir. Beyin omurilik sıvısı, idrar, eritrosit, trombosit ve küçük lenfositlerde, eozinofil ve bazofillerde genellikle bulunmaz ya da eser miktardadır. Plazma LZM'in başlıca kaynakları nötrofilik granülositler içindeki lysosomlardır (1, 2). 1965 yılında Jolles ve arkadaşlarının monositik ve myelomonositik lösemili hastaların serumlarında yüksek LZM konsantrasyonunun bulunduğunu açıklamalarından sonra bu enzim lösemiler yönünden önem kazandı (3).

LZM ölçümleri Myeloid lösemileri, öteki akut lösemilerden ayırd etmeye yardım eder. Bilinen Sitolojik ve Sitokimyasal bulgulara ek olarak LZM aktivitesinin saptanması tanıya yardımcı olur. Şöyle ki: Akut Lenfoblastik lösemide LZM normal sınırlar içinde veya düşüktür. (Lenfoblast ve Lenfositlerde LZM aktivitesinin olmamasına bağlı). Akut Myeloblastik Lösemide orta derecede yüksek, Akut Monoblastik Lösemide ise çok yüksek se-

(*) A. Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Hast. ve Sağ. Kliniği Asistanı

(**) A. Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Hast. ve Sağ. Kliniği Profesörü

(***) A. Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Hast. ve Sağ. Kliniği Profesörü

rum ve idrar LZM değerleri görülmüştür. Ayrıca aktif kemoterapi altındaki lösemili hastalarda seri halde serumda yapılan LZM tayinleri antilösemik tedavinin etki derecesini de gösterebilir. AMML ve AMOL lösemilerde yüksek olan LZM remisyonunda normale inmiş, fakat eğer tedavi etkisiz kalmışsa LZM'de yüksek seviyede sebat etmiştir. Denilebilir ki seri halinde serum LZM ölçülmesi kemik iliği incelemeleri kadar bilgi verebilir.

MATERYAL VE METOD :

Bu çalışmada 2 - 16 yaş arasında, 17 AMML, 2 eritrolösemi ve akut blastik fazda 1 KML hastalarda idrar ve serumda LZM aktivitesi ölçülmüştür. Ayrıca kontrol olmak üzere 5 sağlıklı çocukta LZM aktivitesi tayin edilmiştir. Prockop ve Davidson tarafından modifiye edilen turbidimetrik metod kullanılmıştır (4). Micrococcus Lysodeikticus bakterileri ile hazırlanmış solusyona steril şartlarda alınan serum ilâve edildiğinde serum içinde bulunan LZM'in bakterilerin hücre duvarını eritmesi ve suspansiyondaki bulanıklığın azalması esasına dayanmaktadır.

Normal değerler : 0.7 - 2.0 µg IL/ml. veya

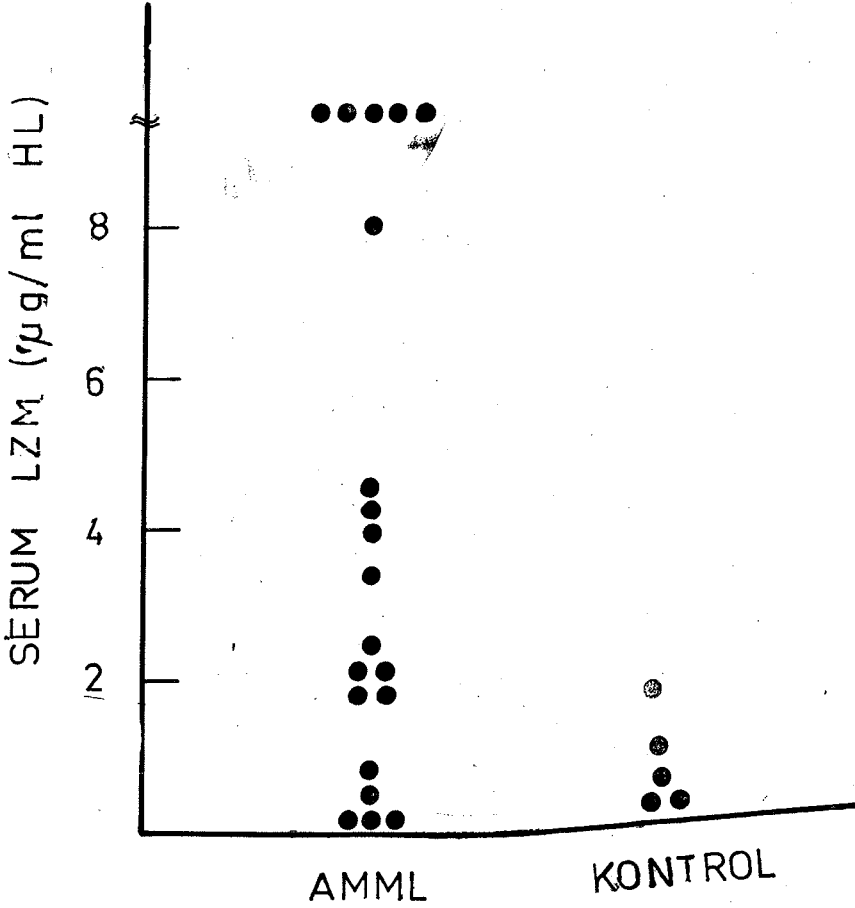
3.0 - 9.0 µg yumurta beyazı LZM/ml.

İdrarda ise Osserman ve Lawlor'un Screening testine göre LZM aktivitesi ölçülmüştür (5). % 3 Sulfosalisilik asitle bulanıklık elde etme esasına dayanan bir metoddur.

BULUMLAR :

2 - 16 yaşlar arasında 15 erkek ve 5 kız olan toplam 20 lösemili çocuktan 17'sinde lösemnin tipi Akut Myelo Monositik idi. Bu hastaların 16'sında tedaviden önce LZM aktivitesi ölçülmüş ve 12'sinde (% 75) normal değerlerin üzerinde bulunmuştur (Tablo : 1 - Şekil : 1). 3 - 11 yaşlarındaki 5 kontrol grubundaki LZM değerleri ise (Tablo : 2) de görülmektedir.

İncelediğimiz AMML vak'alarında relatif lökosit ve kemik iliğinde blast sayısı ile serum LZM aktivitesi arasında direkt bir korelasyon yoktur (Tablo : 3).



Yapılan çalışmalar göstermiştir ki Akut Myelomonositik (AMML) ve Akut Monositik (AMOL) lösemilerde tedaviden önce yüksek bulunan LZM, remisyonda normal düzeylere inmektedir (5, 6, 7). İzlediğimiz vak'aların 4'ünde tedaviden önce yüksek olan LZM remisyonda devresinde normal değerlere inmiştir (Tablo: 4). Seri halde yapılan LZM tayinlerinde rölapsta LZM tekrar yükselebilmektedir. Rölaps döneminde incelenen 6 vak'adan kronik Granulositik Löseminin Akut Blastik kritiğinde olan hastada hiç aktivite saptanmadı. 3 AMML'li vak'ada LZM yüksek 2 AMML'li hastada ise normal düzeyde bulundu.

TEDAVİDEN ÖNCE İDRARDA VE SERUMDA
LYSOZYM DÜZEYLERİ

VAKA	YAS YIL	İDRARDA	SERUMDA µg HL/ml (0,7-2)
1-K.Ö	4,5	+	4,3
2-A.G	7	menfi	4,0
3-A.T	13	menfi	—
4-Y.A	8	menfi	18,0 [↑]
5-E.O	11	menfi	18,0 [↑]
6-A.Ö	12	+	22,0
7-Ö.G	11	menfi	—
8-I.U	3	+	2,2
9-S.T	5	—	—
10-D.Z	35	menfi	18,0 [↑]
11-S.A	8	menfi	1,9
12-R.S	2	menfi	2,1
13-U.Y	4	menfi	0,
14-A.T	8	menfi	2,5
15-F.C	11	menfi	0,4
16-E.T	9	menfi	18,0 [↑]
17-S.C	6	menfi	3,4
18 ^x -S.A	2	menfi	0,6
19 ^x -C.K	5	menfi	4,5
20 ^{xx} -Z.E	16	menfi	0,

X EL

XX KGL

KONTROL VAKVALAR	YAŞ	SEKS	SERUMDA LYSOZYME		LÖKOSİT (mm ³)
			µg Hl /ml	µg El /ml	
A.K	3	E	1,7	3,4	4800
S.S	13	K	0,3	0,6	6400
S.O	11	E	0,8	1,6	4400
G.K	10	K	0,2	0,4	6200
H.Ç	11	E	0,2	0,4	5400

LÖKOSİT VE KI DE. BLAST SAYISI İLE LYSOZYM
DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

VAK'A NO	YAŞ yıl	SEKS	LOKOSİT (mm ³)	KİLİĞİ BLAST SAYISI	SERUMDA LYSOZYME	
					ug/ml Hl	ug/ml EL
1 - K.Ö	45	E	4480	85	4.3	23
2 - A.G	7	E	117.400	62	4	20
3 - A.T	13	K	2820	81	1.9	9
4 - Y.A	8	E	26.520	95	18	90
5 - E.Ö	11	E	36120	80	18	90
6 - A.Ö	12	K	36.000	97	2.2	110
7 - Ö.G	11	E	2800	6	0	0
8 - İ.U	3	E	23.720	84	2.2	12
9 - S.T	5	E	5960	20	8.1	40.5
10 - D.Z	35	E	22560	74	18	90
11 - Ş.A	8	E	26120	29	1.9	8
12 - R.S	2	K	8720	100	2.1	12
13 - U.Y	4	E	4920	100	0	0
14 - A.T	8	E	19040	24	2.5	12.5
15 - F.Ç	11	E	23.600	100	0.4	2
16 - E.T	9	E	112.640	34	18	90
17 - S.C	6	K	18.500	100	3.4	17
18* - S.A	2	E	7400	39	0.6	3
19* - C.K	5	E	16800	54	4.5	22.5
20** - Z.E	16	K	2500	94	0	0

* EL

** KGL AKUT BLASTİK FAZ

AKUT MYELOMONOSTİK LÖSEMİLİ HASTALARIN
SERUM VE İDRARLARINDA LYSOZYME
(MURAMİDASE) AKTİVİTESİ

113

TEDAVİDEN ÖNCE VE REMİSYONDA SERUM LYSOZYME
DÜZEYLERİ

VAK'A NO.	VAK'A	YAŞ.	SEKS.	SERUMDA		LYSOZYME	
				TEDAVİ ÖNCESİ		REMİSYON	
				$\mu\text{g HI/ml}$	$\mu\text{g EI/ml}$	$\mu\text{g HI/ml}$	$\mu\text{g EI/ml}$
4	YA	8	E	18"	90"	0,6	3
5	E.Ö	11	E	18"	90"	1	6
8	I.U	3	E	2,2 ^x	12	1	5
19	C.K	5	E	4,5	22,5	1,2	6

Böylece rölaps evresindeki 6 lösemili hastanın 3'ünde LZM değerleri yüksek idi.

TARTIŞMA :

Lysozyme bugün çok hastalarda ilgi toplayan bir konudur. 1922 yılından bu yana bilinen bir enzim olmasına karşın ilk kez 1965 senesinde Jollés ve arkadaşlarının monositik ve myelomonositik lösemili hastaların serumlarında yüksek lysozyme konsantrasyonunun bulunabileceğini açıklamalarından sonra lösemiler yönünden önem kazanmıştır. Bu açıklamadan bir yıl sonra da Osserman ve Lawlor (A.M.M.L.) Akut MyeloMonoblastik Lösemi hastalarının serum ve idrarlarında yüksek lysozyme konsantrasyonunun varlığını gösterdiler (1, 2, 3). Biz de incelediğimiz 16 AMML'li vak'ada % 75 oranında serum LZM yüksek bulduk. Ayrıca Perillei (1968), Wiernik (1969) ve Serpick (1969), Pruzansky (1968) ve Saiot (1969) daha sonraki yıllarda benzer sonuçları elde etmişlerdir (1, 2).

LZM duyarlı olduğu bakterilerin hücre duvarındaki B acetyl glucosamine - B acetyl müramic asid tetramerinin 1 - 4 glükoz bağları üzerinde özgül olarak hareket eder. Bu tetramer bir çok bakterilerin hücre duvarının yapısal ünitesidir. Lysozyme serum komplementi ile bazı bakterilerin lizis ve olasılıkla öldürülmesinde rol oynadığı sanılmaktadır (1).

Bugün için Lysozyme'in insan lösemik monosit ve granülositlerdeki varlığı :

- Histobakteriyel
- Immunofloresan
- Elektron mikroskopik olarak kanıtlanmıştır (1).

Akut myelomonoblastik lösemilerde serumda olduğu gibi idrarda da lysozyme saptanabilmektedir. Osserman ve Lawlor 1966 yılında lysozyme'i idrarda basit bir screening testle göstermeyi başarmışlardır (8). Böbrekte, glomerüllerde filtre edilen lysozyme tübüler epitelde reabsorbe olmaktadır. İdrarda en fazla karıştığı protein Bence Jones proteindir. Lysozymenin mole-

kül ağırlığı 14500, Bence Jones proteinin ise yaklaşık olarak 25000 dir. Polipeptitlerden oluşan bu iki protein ise benzer fizik ve kimyasal özellikler göstermelerine karşın birbirlerinden tamamen farklıdırlar. Dr. Osserman lysozyme için geliştirdiği screening testi sırasında iki protein arasındaki bazı ilginç benzerlik ve ayrıcalıkları tanımlanmıştır.

Sulfosalisilik asit ilâvesi ile görülen presipitasyon lysozymde 60 - 70°C de, Bence Jones proteininde ise ancak kaynayınca kaybolur. Soğutulunca presipitasyon yeniden izlenebilir. Lysozyme varlığında presipitasyon 35 - 40°C ye kadar soğutulunca görülür.

İncelediğimiz 17 AMML, 2 eritrolösemi ve 1 blastik fazda Kronik Myelositik Lösemi hastaların ancak 3 ünde idrarda LZM müsbet bulundu, diğerlerinde ise negatif idi.

Serumda oldukça yüksek düzeyler meydana geldikten sonra idrarda LZM görülmeye başlar ancak bugün için bu düzey kesin bir sayı ile belirtilememiştir.

Lysozyme'in akut lösemilerde diagnostik Prognositik, terapötik yönlerden önemi üzerinde durulmakta ve çeşitli araştırmalar yapılmaktadır.

Lysozyme'in diagnostik önemi :

Myeloid lösemileri öteki akut lösemilerden ayırmaya yarar. Akut lenfoblastik lösemide lysozyme düzeyi normal sınırlar içindedir. Akut Lenfoblastik lösemide tedaviden önce ve rölapsta lysozym düzeyinin normal ve normalin altında değerler göstermesi lenfoblast ve lenfositlerde lysozyme aktivitesinin olmamasına bağlıdır. Tedaviden önce ve rölapsta normalin altında değerler gösteren akut lenfoblastik lösemi vak'alarında remisyon fazında granülositlerin kana dönmesi ile serum lysozym'inin normale ulaşabildiği gösterilmiştir (2, 6, 7, 9).

Çocuklarda görülmeyen kronik lenfoblastik lösemide serum lysosim'i normal değerlerdedir (9).

Bugün için akut myeloid lösemilerin sınıflandırılmasında fikir birliğine varılmış bir ölçüt yoktur ve bilinen sitolojik ve

sitokimyasal bulgulara ek olarak lysozyme aktivitesinin saptanması tanıya yardımcı olabilmektedir. Bu grup lösemilerden akut myeloblastik lösemide (AMOL) normal veya normale yakın (A.M.M.L) akut myelomonositik lösemilerde orta derecede yüksek serum ve idrar değerleri görülmüştür (1, 2, 6, 7, 8).

Myeloproliferatif hastalıkların özellikle terminal devresinde akut myeloblastik lösemiye dönüş eskiden beri bilinen gerçektir. Bazı araştırmacılar tarafından kabul edilmemekle beraber Catovsky ve arkadaşları bu grup hastalıkların izlenmesi sırasında serum lysozyme aktivitesinin artmasını akut lösemik değişimden bir habercisi olarak nitelendirmektedirler (1, 10).

Lysozyme'in prognostik önemi :

Bu konuda çeşitli araştırmalar ve görüşler vardır. Lösemili hastalarda yüksek lysozyme düzeyinin prognozda da iyi olduğunu gösterdiğini ileri sürmekte ve şu kanıtlarda açıklamaya çalışmaktadırlar.

a — Tedavi öncesi yüksek serum lysozyme düzeyi çok miktarda lösemik hücrenin parçalanmasına bağlıdır. Yani fazla miktarda hücre yapımına karşılık hızlı bir hücre yıkılması vardır.

b — Çok miktarda lösemik hücre içeren sellüler enzim grubunun olağanlıkla differansiyon ve fonksiyon yapabilme yeteneği daha çoktur.

c — Bakteriyolitik aktivite nedeni ile bu hastaların bir grup enfeksiyonlara yakalanma olanağı daha azdır (1, 2, 6). Bunun yanında LZM düzeyi ile prognoz arasında ilgi kuramayan araştırmacılar da vardır (11, 12).

Lysozyme'in tedavi yönünden önemi :

Tedaviden önce remisyon meydana gelen hastalarda serum lysozyme aktivitesinin de normale döndüğü görülmüştür. Literatürde komplet remisyon olmadıkça normalin üstünde değerler elde edildiği belirtilmiştir. Rölapsta lysozyme'in serum akti-

vitesinin yeniden arttığıının saptanması lysozyme'in yapılan tedavinin etki derecesini kısmen de olsa yansıttığı fikrini vermektedir (6, 12).

Sonuç olarak LZM tayini diagnostik yönden AMOL ve AMML tanısında diğer kriterlere ek olarak, ayrıca seri halinde yapılan LZM tayinleri ile tedavinin değerlendirilmesine yararlı bir gelişme olarak gösterilebilir.

Ö Z E T

Bu çalışmada 2 - 16 yaş grubu arasındaki 17 AMML, 2 eritrolösemiden AMML'ye dönmüş ve lösemili 1 kronik granülositik tanın akut blastik krizi sırasında toplam 20 vak'ada serum ve idrarda lysozyme (Muramidase) aktivitesi araştırıldı.

Serumda enzim çalışması türbidimetrik yöntemle idrarda ise screening teste yapıldı.

Hastaların yalnız 3'ünün idrarında yani % 15 oranında lysozyme müsbet bulundu. AMML grubun serumunda yapılan çalışmada hastaların % 75 inde yüksek lysozyme aktivitesi vardı. Çalışmaya alınan toplam 20 vak'anın 13'ünde yüksek lysozyme düzeyi saptandı. Sonuç olarak 20 vak'anın % 65'inde yüksek lysozyme aktivitesi vardı.

SUMMARY

(Serum and Urine Lysozyme in Acute Myelomonoblastic Leukemia)

We determined serum and urine lysozyme in 20 patients aging from 2 - 16 years with acute myelomonoblastic leukemia and 5 control subjects. Urine lysozyme was positif in 3 patients but serum lysozyme was increased in 13 patients.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — Catovsky, D., Galton, D. A. G. and Griffin, C. : The significance of lysozyme estimations in acute myeloid and chronic monocytic leukemia. Brit. J. Haemat. 21: 565 - 590, 1971.

- 2 — Perillie, P. E., and Fritch, S. C. : Lysozyme in Leukemia. *Med. Clin. of North Amer.*, 57 : 395 - 407, 1973.
- 3 — Jolles, P., Sternberg, N., and Mathe, G. : The relationship between serum lysozyme levels and the blood leucocytes. *Israel J. Med. Sci.*, 1: 445 - 447, 1975.
- 4 — Prockop, D. Ö., and Davidson, W.D. : A study of urinary and serum lysozyme in patients with renal disease. *New Eng. J. Med.* 270 : 269 - 274, 1964.
- 5 — Snapper, I., and Seld, D. : Brief note : A screening test for the presence of urinary lysozyme (Muramidase). *Blood*, 31; 516 - 517, 1968.
- 6 — Seligman, B. R., Rosner, F., Parise, F., Lee, S. L. : Serum miramidasi levels in acute leucemia. *The Amer. J. of the Med. Sci.*, 264 : 69 - 82 1972.
- 7 — Noble, R. E., Fudenberg, H. H. : Leukocyte lysozyme activity in myelocytic leukemia. *Blood.*, 30: 465, 1967.
- 8 — Osserman, I. F., Lawlor, D. P. : Urinary excretion of a cationic protein with lysozyme (Muramidase) properties in Monocytic leukemia. *J. of Clin. Invest.* 45: 1054, 1969.
- 9 — Pruzanski, W., and Saito, S. G. : The diagnostic value of lysozyme (Muramidase) estimation in biological fluids. *Amer. J. Med. Sci.* 258 : 405 - 415, 1969.
- 10 — Skarin, A. T., Matsuo, Y., and Moloney, W. C. : Muramidase in myeloproliferative disorders terminating in acute leukemia. *Cancer.*, 29: 1336 - 1342, 1972.
- 11 — Crowder, J. G., and White, A. C. : Selective changes in white cell, Lysozomal enzymes in man. *The Amer. J. of Clin. Sci.* 255 - : 327 - 335 1965.
- 12 — Levi, J. A., Speden, J. B., et all : Studies on muramidase in haematological disorders. I. Serum muramidase and serum Lactic dihydrogenase in Leucemia. *Cancer.* 31: 939 - 947, 1973.