

## **VİRAL HEPATİTLİ VE KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ OLAN HASTALARIN NÖTROFİL ALKALEN FOSFATAZ SEVİYELERİ**

Dr. Ebubekir BAKAN (x)

Dr. Ali BAYRAM (xx)

Uz. Zeki ARI (xxx)

### **ÖZET:**

*Viral hepatitli 30 ye kronik renal yetmezlikli 16 hastanın kanından izole edilen nötrofillerde alkaleen fosfataz aktivite seviyeleri sitokimyasal ve biyokimyasal olarak tayin edildi. Genellikle normalin alt sınırında lökosit sayımı gösteren viral hepatit grubu ile normalin üst sınırına doğru lökosit sayımı olan kronik renal yetmezlikli hastalar, bu enzimin aktivitesi yönünden karşılaştırıldı. Alkaleen fosfataz enzimi ile nötrofilin yaşı arasında doğru bir orantının olduğu sonucuna varıldı.*

### **GİRİŞ:**

Alkaleen fosfataz (EC 3.1.3.1, ALP) hemen her dokuda yaygın olarak bulunan bir enzimdir (1). Lenfosit ve monosit gibi mononükleer lökositlerin sitoplazmik membranında düşük seviyelerde aktivite göstermesine (2) rağmen bu enzimi, deneysel olarak tesbit edilebilecek miktarlarda içeren kan hücreleri polimorfonükleer (PMN) lökositler (nötrofiller) dir (3). Lökosit ALP (LAP) enzimi, aktivitesini sitoplazmada göstermektedir (4). Ancak nötrofil içerisinde mikrozomal zar yapılarına bağlı olduğu (5) veya "fosfazom" denen bir tip granül içerisinde bulunduğu (6) ve aktif fonksiyon göreceği zaman sitoplazmaya geçtiği (7) son zamanlarda yapılan çalışmalardan anlaşılmıştır.

Bu enzimin fonksiyonu kesin olarak bilinmiyor (8). Fakat fagositoz olayında görev aldığı sanılmaktadır (9,10). Çünkü kronik granulositik lösemide (CGL) LAP aktivite seviyelerinin düşmesine paralel olarak nötrofilin fagositoz yapma yeteneğinin de azaldığı gözlenmiştir (11). Diğer taraftan, LAP düzeylerinin birçok

(x) Atatürk Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı

(xx) Atatürk Üniv. Tıp Fak. İç Hastalıkları Kliniği

(xxx) Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Biyokimya Bilim Dalı

hastalıkta normalden sapma gösterdiği kesin olarak bilinmektedir (12). Biz bu çalışmamızda viral hepatit (VH) ve kronik renal yetmezlik (CRF) li hasta nötrofililerinin ALP aktivite düzeylerini belirlemeği amaçladık. Ayrıca enzimin periferik lökosit sayımı (PLS), PMN sayımı ve nötrofilin yaşı ile ilgisini araştırmaya çalıştık.

## MATERYAL VE METOD

Hastanemiz ilgili kliniklerinde kesin olarak tanısı konmuş 30 VH li ve 16 CRF li hastanın venöz kanından daha önce kullandığımız metodla lökositler izole edildi (13). Bu lökositlerde kantitatif biyokimyasal LAP (bLAP) aktivite seviyeleri De Chatelet ve Cooper'in (14) metodu modifiye edilmek (15) suretiyle tayin edildi. Aynı hastaların periferik kanından hazırlanan kan preparatlarında semi kantitatif sitokimyasal LAP (cLAP) aktivitesi Kaplow'un (16) kullandığı yöntemle belirlendi.

Her iki hasta grubunda PLS'ı, serum ALP (SALP) değerleri ve periferik nötrofil sayımı tesbit edildi. Ayrıca VH hasta grubu için SGOT, SGPT, total bilirubin ve serum proteinleri (albumin, globulinler, A/G oranı) tayin edildi.

## BULGULAR

Vakalarımızı, VH ve CRF kesin tanısı konmuş hastalar oluşturmaktadır. VH li hastaların özellik arzeden rutin tetkikleri tablo-I de gösterildi. Elde edilen deneysel sonuçlara ait bulguların ortalama değer ve standart sapmaları hesaplandı (Tablo-I). Bulgularımız, daha önce tesbit ettiğimiz (17) normal sağlıklı kişilerdeki değerlerle karşılaştırıldı. (Tablo-II).

Tablo I- Hasta ve kontrol gruplarında bulguların ortalama değer ve standart sapmaları.

	VH (30)	CRF (16)	Kontrol (156)
PLS/mm <sup>3</sup>	6780±1813	10259±5310	6988±2349
SALP (U/lt)	113±49,4	84,9±64,7	80±54
cLAP (U/100 PPMN)	137±43	128±54	87±40
bLAP (mmol PNP/10 <sup>10</sup> )			
lök/saat)	1,89±0,97	2,57±1,52	2,86±1,68
PPMN (%)	53,8±10,9	62,1±9,55	54±11
Lenfosit (%)	34,9±10,3	27,7±9,76	—
SGOT (U)	245,8±156,1	—	14—10*
SGPT (U)	303,2±190,4	—	6—36*
Total Bilirubin (% mg)	7,82±5,39	—	0,7*
Albumin (% gr)	4,68±0,68	—	4—5*
Gobulinler (% gr)	2,72±0,65	—	2—3*
A/G	1,86±0,7	—	—

\* Literatürden (34) aldığımız normal değerler, PNP: p-nitrofenol.

**Tablo- II: Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması ile ilgili sonuçlar (t-testi).**

	VH-Kontrol		CRF-Kontrol		VH-CRF	
	t	P	t	P	t	P
PLS	0,543	> 0,05	2,430	< 0,01	2,542	< 0,01
SALP	3,292	< 0,001	0,293	> 0,05	1,517	< 0,05
cLAP	5,950	< 0,001	2,502	< 0,01	0,564	> 0,05
bLAP	4,380	< 0,001	0,720	> 0,05	1,623	< 0,05
PPMN	0,040	> 0,05	3,183	< 0,001	2,708	< 0,01

VH li hastalarda cLAP ve SALP değerleri kontrol grubuna nazaran yüksek; bLAP değerleri ise düşük bulurdu. CRF li hastalarda ise PLS, cLAP ve periferik PMN (PPMN) sayımı kontrollere göre yüksek bulundu. CRF li hastalarda, PLS ve PPMN sayımı diğer hasta grubuna nazaran daha yüksek bulundu.

Bulgularımızın korelasyon hesabı sonuçları, tablo-III de verildi. CRF li hastalarda istatistik açıdan önemli pozitif korelasyon cLAP-bLAP arasında bulundu. Aynı grupta PLS-cLAP arasında da istatistik olarak çok az önemli bir ilişki tesbit edildi. VH li hastalarda ise SALP-bLAP ve cLAP-bLAP arasında istatistik anlamda önemli bir korelasyon belirlendi.

**Tablo- III. VH ve CRF li hastalarda bulguların arşlaştırılması.**

	CRF		VH	
	r	P	r	P
PLS-cLAP	0,565	< 0,05	0,026	> 0,05
PLS-bLAP	0,282	> 0,05	0,110	> 0,05
cLAP-PPMN	0,050	> 0,05	0,077	> 0,05
cLAP-Lenfosit	0,142	> 0,05	0,058	> 0,05
bLAP-PPMN	0,056	> 0,05	0,159	> 0,05
bLAP-Lenfosit	0,081	> 0,05	0,254	> 0,05
SALP-bLAP	0,015	> 0,05	0,460	< 0,01
cLAP-bLAP	0,649	< 0,001	0,765	< 0,001

## TARTIŞMA

LAP aktivite düzeyleri birçok hastalıkta normalden sapma gösterdiği bilinmektedir. Bazı myeloid metaplaziler (18), myelom ve hipoplastik anemi (19), enfeksiyon ve lökositoz (20), polisitemia vera (21), lökomoid reaksiyonlar (22), multiple myelom (23), bazı ateşli hastalıklar (24), diyabet (25) agnojenik myeloid metaplazi (26) ve mongolizmde (27) LAP düzeylerinin düşük olduğu belirlenmiş-

tır. Diğer taraftan, CGL (28), paroksizmal nöktürnal hemoglobüni (29), hipofosfatazi (30), lökopeni (20), Down's sendromu (31) ve raşitizmde (32) düşük aktivite değerleri bulunmuştur.

Literatürde, VH ve CRF li hastalarda LAP çalışmasına rastlanmadı. Bu iki hasta grubunu seçişimizin sebebi şudur: Birincisi, LAP aktivitesinin, PLS nin normalin alt sınırında olduğu VH de ve normalin üst sınırına doğru olduğu (33) CRF de nasıl bir özellik gösterdiğini belirlemek; ikincisi, VH li hastalarda nötrofil yaşı ile LAP düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

VH li hastalarda SGOT, SGPT, SALP, bilirubinde yükselme olduğu (34) ve PLS da başlangıçta hafif bir düşüklük (genellikle nötropeni şeklinde) görüldüğü halde zamanla lökosit sayımı normale dönerken bir lenfositöz gözlemlendiği (35,36) bilinmektedir. Bu hastalarda PLS normal seviyelerde iken kanda genellikle atipik lenfositler görülür (37).

Lökopeni durumlarında periferde yaşlı nötrofillerin daha fazla bulunduğunu söylemek mümkündür. VH li hastalarda hafif bir nötropeni ile birlikte cLAP aktivite seviyelerini yüksek bulmamız, periferik kanda yaşlı nötrofillerin normale nazaran daha fazla bulunduğunu ve bu hücrelerin ALP enzim aktivitesinin yüksek olduğunu gösteriyor. Zaten aktivite tayini için hazırlanmış preparatları incelediğimizde, çekirdekleri çok loblu olan nötrofillerde LAP aktivitesinin yüksek olduğunu gözlememiz de bunu göstermektedir.

CRF li hasta nötrofillerinde, VH li hastalarinkine nazaran düşük fakat kontrol grubuna göre yüksek enzim aktivitesinin gözlenmesi, bu hastaların periferik kanında yaşlı nötrofillerin sayısının nisbeten az olduğunu gösterebilir. Ancak normale nazaran yüksek aktivitenin gözlenmesi de bu hastalarda tesbit ettiğimiz hafif bir lökositözla açıklanabilir. Çünkü daha önce belirttiğimiz gibi lökositözda LAP aktivitesi yükselmektedir.

Bu çalışmamızın oldukça önemli bir bulgusu da bLAP aktivitesinin VH li hastalarda diğer hasta grubuna nazaran düşük çıkmasıdır. Bu, şöyle açıklanabilir; bLAP düzeylerinin tayini için lökosit izolasyonu gerektiği için bu işlemler esnasında yaşlı olan nötrofiller ölmüş olabilir. Böylece elde edilen lökosit süspansiyonunda PMN lökositler azalacağından aktivite düşmüş olacaktır. Bu da bLAP aktivitesine etki eden önemli bir faktörü göstermektedir.

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda PLS-cLAP arasında tesbit ettiğimiz pozitif bir korelasyon, hafif bir lökositözda dahi LAP aktivitesinin yükseldiğini göstermektedir. Ayrıca daha önce yaptığımız bir çalışmada (17) biyokimyasal ve sitokimyasal aktivite tayini sonuçları arasında önemli pozitif bir korelasyon tesbit etmiştik. Aynı korelasyonun bu hasta grupları için de olduğu gözlemlendi (Tablo-III).

Sonuç olarak, bu çalışma göstermiştir ki PMN lökositin yaşı ile LAP aktivitesi arasında doğru bir orantı vardır.

**ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN NEUTROPHILS FROM PATIENTS WITH VIRAL HEPATITIS AND CHRONIC RENAL FAILURE**  
**SUMMARY**

Cytochemical and biochemical leukocyte alkaline phosphates activity levels in neutrophils isolated from 30 patients with viral hepatitis and 16 patients with chronic renal failure were determined. The viral hepatitis group which has usually low-normal white blood cell count and the other group that has high-normal white blood cell count were compared with respect to neutrophil alkaline phosphatase activity levels. It was concluded that the enzyme activity was proportional to neutrophil age.

**KAYNAKLAR**

1. Tietz, N.W. (derleyer), *Fundamentals of Clinical Biochemistry*, London, WB Saunders Co. s. 610 1976.
2. Karammers, M.T.C., Catowsky, D. ve Eoa, R., Cell membrane enzyme II alkaline phosphatase and alkahine phosphodiesterase I in leuakemic lymphocytes Br. J. Haematol. 40: 111-118 (1978).
3. Valentine W. N., Follette, J.H., Solomon, D.H. ve Reynolds, J., The arelationship of leckocyte alkaline phosphatase to "stress", to ACTH and to adrenal 17- corticosteroids, J. Lab. Clin. Med. 49 (5): 723-737 (1975).
4. Kaplan, N., Leukocyte alkaline phosphatase cytochemistry applications and methods, Ann. NY. Acad. Sci. 155: 911-947 (1968).
5. Rustin, G.J. S., Wilson, P.D. ve Peters, T. J., Studies on subcellular localization of human neutrophil alkaline phosphatase, J. Cell, Sci. 36: 401, 412 (1979).
6. Rustin, G.J.S. ve Peters T.J., Studies on subcellular organelles of neutrophils in chronic granulocytic leukaemia with speical reference to alkaline phosphatase, Br. J. Haematol. 41: 533-543 (1979).
7. Wilson, P. D., Rustin, G.J. S., G.P. ve Peters, T.J. Electron microscopic cytochemical localization of nucleoside phosphatase in normal and chronic granulocytic leukaemic human neutrophils, Histochem. J. 13: 73-84 (1981).
8. Sato, N., Mori, M., Oshimura, M., Ueyama, Y., Miva, T., Ohsawa, T. Kosaka, K. ve Asano, S., Factor (s) responsible for the increase in alkaline phosphatase activity of postmitotic granulocyte from human individuals and patient with chronic myeloid leukaemia, Blood 59 (1): 141-147 (1982).

9. Smith, G.P. ve Peters, T. J., Subcellular localization and properties of prokaryotic phosphate phosphatases of human polymorphonuclear leukocytes and their relationship to acid and alkaline phosphatase, *Biochem, Biophys. Acta.* 661: 287-294 (1981).
10. Ten Cate, A.R. ve Syrbu, S., A relationship between alkaline phosphatase activity and the phagocytosis and degranulation of collagen by the fibroblast. *J. Anat.* 117: 351-359 (1974).
11. Whittaker, J. A., Khurshid, M. ve Hughes, H.R., Neutrophil function in chronic granulocytic leukaemia before and after treatment, *Br. J. Haematol.* 28: 541-545 (1974).
12. Patterson, R.B., Heyas, D.M. ve Spurr, C.L., Studies of leukocyte alkaline phosphatase activity of leukocytes in various diseases, *Southern, J. Med.* 96: 1026-1029 (1963).
13. Bakan, E., Arı, Z., Bayram, A. ve Bakan, N., Nötrofillerin ekstrasellüler glukoz kullanımı, *Atatürk Üniv. Tıp Bült.* (baskıda).
14. DeChatelet, L. R. ve Cooper, M. R., A modified procedure for the determination of leukocyte alkaline phosphatase, *Biochem, Med.* 4: 66-68 (1970).
15. Bakan, E., Arı, Z., Gündoğdu, M. ve Akkuş, İ., Nötrofil alkalen fosfatazının kolorimetrik olarak tayini, *Biyokimya Dergisi* (baskıda), (1983).
16. Kaplow, L.S. a histochemical procedure for localizing and evaluating alkaline phosphatase in smear and marrow, *Blood* 10: 1023-1028 (1955).
17. Bakan, E., Soysal, T., Yeğın, M.M. ve Bakan, N., Biyokimyasal ve sitokimyasal lökosit alkalen fosfataz aktivitetlerinin karşılaştırılması, *A.Ü. Tıp Bülteni* (baskıda) (1983).
18. Wiltshaw, H. ve Moloney, W. C., Biochemical and histochemical studies on leukocyte alkaline phosphatase, *Blood* 10: 1120-1139 (1955).
19. Curtius, H. Ch. ve Roth, M., *Clinical Biochemistry, Principles and Methods, C II*, London, Walter de Gruyter, 1974, s. 1164-1224.
20. Kemp, J. A., Herndon, J.W. ve Wright, C. S., Vacillations in leukocyte alkaline phosphatase, *Southern, Med. J.* 55: 281-290 (1962).
21. Beck, W. S., Follette, J. H., Milis, H. ve Lawrance, J. S., Biochemical studies on chronic myelocytic leukaemia, polycytemia vera, and other myeloproliferative disorders, *Blood.* 7: 959-964 (1952).
22. Meislin, A.G., Lee, S.L. ve Wesserman, L.R., Leukocyte alkaline phosphatase activity in hematopoietic disorders. *Cancer* 12: 760-766 (1959).
23. Brook, J. ve Dreisbach, P. B., Leukocyte alkaline phosphatase in multiple myelom, *J. Lab. Clin. Med.* 90. (1): 114-117 (1977).

24. Beisel, W. R., Neutrophil alkaline phosphatase in tularemia, sandly fever, q-fever, and noninfectious fever *Blood* 29 (2): 257-258 (1967).
25. Nagatoma, C. ve Nojao, M., Neutrophil alkaline phosphatase in diabetes mellitus (Japanese), *J. Showa, Med. As* 29 (2): 22-28 (1969).
26. Silverstein, M.N. ve Elveback, L. R., Leukocyte alkaline phosphatase in agnogenic myeloid metaplasia, *Am. J. Clin. Path.* 61: 307-311 (1974).
27. Trubowitz, S., Kırman, D. ve Masek, B., Leukocyte alkaline phosphatase in mongolism, *Lancet* 2: 486-490 (1962).
28. Rosner, F., Schreiber, Z.R. ve Parise, F., Leukocyte alkaline phosphatase: fluctuations with disease status in chronic granulocytic leukaemia, *Arch. Int. Med.* 130: 892-894 (1972).
29. Tanaka, K. R., Valentine, W. N. ve Fredrick, R. E., Diseases or clinical conditions associated with low leukocyte alkaline phosphatase, *New Eng. J. Med.* 262: 912-918 (1960).
30. Beisel, W. R., Benjamin, N. ve Austen, K. F., Absence of leukocyte alkaline phosphatase activity in hypophosphatasia, *Blood* 14: 975-977 (1959).
31. McCoy, E. E., Ebadi, M. ve England, J., Steroid mediated changes of leukocyte alkaline phosphatase activity in Down's syndrome, *ped.* 38 (6): 966-1002 (1966).
32. Özsoylu, Ş., Leukocyte alkaline phosphatase in rickets due to vitamin D deficiency, *New Eng. J. Med.* 280: 1221-1223 (1969).
33. Berkow, R. (derleyen) *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*, Merck and Co. Inc. Rahway, 1977 s. 282.
34. Ertuğrul, M., *Viral Hepatit-Sarılık*, Ankara, Öztekin Matbaası, 1980, s. 42.
35. Jules, L. D., Jack, R. W. ve Raybond, S. K., "acute Hepatitis", Kurt, J. A., Raymond, D. A., Eugene, B., Robert, G. P. ve Jean, D. W., *Harrison's Principles of Internal Medicine*, New York, McGraw-Hill Co. 1980 s. 1464.
36. John, V. C., Lloyd, L. B. ve Sol. S. "Gastrointestinal Tract and liver" Marcus, A. K. ve Milton, J. C., (derleyenler), *Current Medical Diagnosis and Treatment* Beirut, Lange Medical Publications, 1981, s. 277.
37. Wintrobe, M.M., *Clinical Haematology*, Philadelphia, Le and Febiger Co, 1981, s. 1288-1289.