

# Die Bedeutung des Serum-(Lysozym-) Spiegels im Kindesalter

Von

L. KARMAZSIN, Anikó MAKAY, F. ROZGONYI, Margit SZÖVETES und  
Mária BALOGH

Kinderklinik und Mikrobiologisches Institut der Medizinischen Universität Debrecen

(Eingegangen am 27. September 1976)

Bei an verschiedenen Krankheiten leidenden Kindern im Alter zwischen 1 und 14 Jahren wurde die Serum-Lysozymaktivität registriert und mit Werten gesunder Kontrollpersonen verglichen. Leukämiekranken wurden ins Untersuchungsmaterial nicht aufgenommen. Die Erfahrungen sprechen dafür, daß sich die Enzymbestimmung: 1. zur Feststellung bzw. Ausschließung des bakteriellen Ursprungs von Prozessen mit ungeklärter Ätiologie, 2. zur Beurteilung des therapeutischen Effekts der Immunosuppressivbehandlung und 3. zur frühen Erkennung der während der Immunosuppressivtherapie auftretenden bakteriellen Infektionen eignet.

Dem von FLEMING [6, 7] vor mehr als 50 Jahren (1922) entdeckten Enzym Muramidase wurde nur neustens, im Laufe der mit dem komplexen Immunsystem des Organismus verbundenen Forschungen — und zwar angesichts seiner bakteriolytischen Aktivität — eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Auf Empfehlung des Enzym-Komitees der Internationalen Gesellschaft für Biochemie wird das Enzym jetzt Lysozym genannt [5]. Durch das Enzym, ein Eiweiß mit 14–15 000 Molekulargewicht, werden die Mukopolysacchariden der Bakterienzellwand hydrolysiert und die Bakterien so mittels osmotischem Schock *in situ* abgetötet. Es beteiligt sich auch an der Verdauung von Bakterien, die durch ein anderes System bereits abgetötet worden sind, und spielt mitsamt anderen Enzymen seine wichtigste

Rolle in der letzten, entscheidenden, sog. »killing«-Phase der Phagozytose, in der das Abtöten der inkorporierten Bakterien stattfindet. Das Lysozym ist ein wichtiger Faktor der bakteriziden Plasmakapazität und übt auch auf die Granulopoese einen beschleunigenden Effekt aus [11].

Das Enzym kann in größeren Mengen in den Azurgranula, d. h. in den Lysosomen und Monozyten der neutrophilen Granulozyten und nach den neuesten Literaturangaben auch in den zur Ultraphagozytose fähigen Lymphozyten vorgefunden werden [1, 3, 13]. Das Freiwerden der lysosomalen Enzyme im Zytoplasma wirkt als ein stimulierender Faktor auf die Lymphozytentransformation ein. Die Lysosome der Granulozyten liegen tief im Zytoplasma. Das Freiwerden des Enzyms erfolgt nur im Falle der Schädigung, der

Zerstörung bzw. der funktionellen Stimulation der Zelle. Durch die Monozyten, deren Lysosome in der Nähe der Zelloberfläche liegen, wird das Enzym nicht nur produziert, sondern wahrscheinlich auch sekretiert [2]. Durch gewisse Agentien und Medikamente so z. B. Steroide, die auf die Membranstabilisation der Lysosome einwirken, wird das Eindringen der Lysosomwirkstoffe in die Phagozyten-Vakuolen verhindert. In diesen Fällen kann sich aber die intrazelluläre Bakterizidie (killing) nicht abspielen und die Bakterien persistieren an von den Antibiotika sicher geschützten Stellen [18]. Das Lysozym kann in niedrigen Konzentrationen im Normalserum und -plasma, in den Gewebemakrophagen, renalen tubulären Zellen, im Speichel, in den Tränen und in äußerst geringen Mengen auch im Harn nachgewiesen werden. Das Enzym gelangt vor allem dem Zerfall der Granulozyten und Monozyten zufolge in das Serum [10], so daß man in sämtlichen Fällen, in denen der Granulozytenumsatz beschleunigt ist, oder verletzbar Zellen in den Kreislauf gelangen oder sich die Phagozytentätigkeit der Mikroorganismen steigert, mit der Erhöhung der Enzymkonzentration im Serum rechnen kann.

Es ist seit einiger Zeit bekannt, daß der Kenntnis der Lysozym-Aktivität der Zellen, des Serums bzw. des Harns in der Diagnostik der Hämoblastosen, bei der Differenzierung der einzelnen Leukämietypen und auch bei der Beurteilung der Prognose sowie des Remissions-

grades dieser Krankheit eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zukommt [2, 14]. Neuere Literaturdaten weisen auf die während der immunsuppressiven Therapie zustande gekommenen Änderungen der Enzymaktivität hin [17].

Angesichts des Gesagten trachteten wir mittels enzymkinetischer Untersuchungen einen Parameter zu ermitteln, der sich zur Beurteilung der Wirksamkeit bzw. des membranstabilisierenden Effekts der immunsuppressiven Therapie sowie zur frühen Erkennung der während der Therapie auftretenden bakteriellen Infektionen eignet.

#### MATERIAL UND METHODIK

Die 96 Serumproben — die unser Untersuchungsmaterial bildeten — stammten von an verschiedenen Krankheiten leidenden Kindern im Alter zwischen 1 und 14 Jahren. Als gesunde Kontrolle wählten wir Kinder, die an unseren chirurgischen und endokrinologischen Abteilungen unter Behandlung standen.

Die akute bakterielle Infektion wurde mittels Bakterienzüchtung (Rachensekret, Blut, Harn) verifiziert; das Züchtungsergebnis war in der Mehrzahl der Fälle ein grampositiver Krankheitserreger. Bei Virusinfektionen stützten wir uns auf die klinischen Symptome, das Blutbild und auf die negativen bakteriellen Befunde. Unter den einer immunsuppressiven Therapie unterworfenen Patienten kamen keine Leukämiekranken vor. Die Nierenfunktionswerte der untersuchten Kinder waren normal.

Zur Untersuchung der Serum-Lysozymaktivität diente die von LITWACK [13] beschriebene turbidimetrische Methode. Angesichts der auffallenden Empfind-

lichkeit des *Micrococcus lysodeieticus* gegenüber die hydrolytische Aktivität des Lysozyms kam als Substrat dieser Organismus zur Anwendung.

Den zu unseren Untersuchungen verwendeten *Micrococcus lysodeieticus*-Stamm (M 15/65 ATCC No. 4968; Czechoslovak Collection of Microorganisms No. 169) stellte uns das Tschechoslowakische Stammzentrum zur Verfügung. Die Bewertung erfolgte mit dem Photometer Spectromom 202. Die der Transmission entsprechende Lysozymkonzentration wurde mit Hilfe von Standardkurven ausgerechnet und die Werte in  $\mu\text{g/ml}$  Serum angegeben. Um eine dem optimalen Meßbereich entsprechende Transmission — zwischen 55% und 70% — zu erhalten, wurden die Verdünnungen unter Berücksichtigung dieses Parameters verfertigt. Das venöse Blut wurde in silikonierete sterile Röhren entnommen und das Serum, falls es nicht unverzüglich aufgearbeitet wurde, bei  $-20^\circ\text{C}$  aufbewahrt. Lypämische, hämolytische Seren ergeben kein zuverlässiges Ergebnis.

### ERGEBNISSE, BESPRECHUNG

Die Ergebnisse (Durchschnittswerte, Standarddeviation, Signifikanz) veranschaulicht Tabelle I.

Im Laufe unsere Untersuchungen

wurden vor allem die als Grundlage dienenden Normalwerte bestimmt. Bei akuter bakterieller Infektion ließ sich eine signifikante Erhöhung der Serum-Lysozymaktivität feststellen. Der hohe Wert der SD (22,09) kann mit den extremen Streuungen erklärt werden.

Bei einem unserer an akuter Osteomyelitis leidenden Patienten betrug der Serum-Lysozymwert  $126 \mu\text{g/ml}$ . Durch Virusinfektionen wurde die Enzymaktivität nicht beeinflusst.

In der Gruppe der mit Immunsuppressiver Dauertherapie behandelten Patienten lag die Enzymaktivität erwartungsgemäß signifikant niedriger. Eine, nebst unveränderter immunsuppressiven Therapie zustandgekommene Steigerung der Serumaktivität — als Zeichen der bakteriellen Infektion — konnte nur in 5 Fällen registriert werden; die Angaben dieser 5 Kinder sind in Tabelle II dargestellt. Die Serumuntersuchungen fanden kurz nach Krankheitsbeginn statt, der Unterschied zwischen den Normalwerten und diesen Werten war aber auch dann augen-

TABELLE I  
Ergebnisse  
(Gesamtmaterial)

	Gruppierung des Krankmaterials	Anzahl der Fälle	Lysozym Durchschnittswert $\mu\text{g/ml}$	SD	P
1.	Normalkontrollen	20	25,07	7,05	—
2.	Akute bakterielle Infektion	36	42,21	22,09	<0,1 %
3.	Virusinfektion	10	25,46	7,27	—
4.	Steroid-Dauerbehandlung	20	16,43	4,86	<0,1 %

Vergleich mit Gruppe 1.

TABELLE II  
5 Angaben von 5 Kindern

Name, Geschlecht	Diagnose	Therapie	Lysozym µg/ml	Bakterielle Infektion	Lysozym µg/ml
G. M. ♀	R. A.	Prednisolon	9,2	Sinusitis maxillaris	24,2
J. K. ♀	R. A.	Prednisolon	16,0	Tonsillitis catarrhalis	34,2
E. F. ♀	Sarkoidose	Prednisolon	13,8	Paronychia	43,8
E. N. ♂	R. A.	Tetracosactid Penicillamin	17,6	Abscessus regionis humeri	38,6
Zs. H. ♀	R. A.	Cyclophosphamid	16,0	Tonsillitis lacunaris	41,2
Durchschnitts- werte			14,5		36,4

fällig. Unsere Ergebnisse stimmen mit den Literaturdaten überein.

Unsere bisherigen Ergebnisse sprechen eindeutig dafür, daß sich die Untersuchung der Serum-Lysozymaktivität zur Feststellung bzw. Ausschließung des bakteriellen Hintergrunds von mit unsicheren Symptomen einhergehenden Prozessen ungeklärter Ätiologie eignet. Ihre Nützlichkeit beweisen auch unsere geringzahligen Fälle, da wir damit in den Besitz eines Parameters gelangen, welcher als ein Frühindikator der im Laufe der immunsuppressiven Behandlung auftretenden bakteriellen Infektionen eine nicht zu unterschätzende diagnostische Hilfe bietet.

#### LITERATUR

1. BRYNIAK, C., LISIEWICZ, J., SEIBERT, K.: The lysosomal enzymes of lymphocytes in the premature and term infant. *Folia haemat. (Lpz.)* **103**, 43 (1976).
2. CATOVSKY, D., GALTON, D. A. G., GRIFFIN, C.: The significance of lysozyme estimations in acute myeloid and chronic monocytic leukaemia. *Brit. J. Haemat.* **21**, 565 (1971).
3. CICHOKI, T., ASTALDI, G., LISIEWICZ, J.: The lysosomal enzymes in lymphocytes. Normal lymphoid tissue. Part I. *Acta vitamin. (Milano)* **26**, 3 (1972).
4. DOSSETT, J. H., RALPH, C., WILLIAMS, R. C., QUIE, P. G.: Studies in interaction of bacteria, serum factors and polymorphonuclear leukocytes in mother and newborn. *Pediatrics* **44**, 49 (1969).
5. FINCH, S. C., LAMPHERE, J. P., JABLONS, S.: The relationship of serum lysozyme to leukocytes and other constitutional factors. *Yale J. biol. Med.* **36**, 350 (1964).
6. FLEMING, A.: A remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proc. roy. Soc. B.* **93**, 306 (1922).
7. FLEMING, A., ALLISON, V. D.: Observations on a bacteriolytic substance ("Lysozyme") found in secretions and tissues. *Brit. J. exp. Path.* **3**, 252 (1922).
8. GLYNN, A. A., MARTIN, W., ADINOLFI, M.: Levels of lysozyme in human foetuses and newborns. *Nature (Lond.)* **225**, 77 (1970).
9. HANSEN, N. E., KARLE, H., ANDERSEN, V.: Muramidase activity of bone marrow plasma. *Acta med. scand.* **185**, 387 (1969).
10. HANSEN, N. E., KARLE, H.: Blood and bone-marrow lysozyme in neutropenia: An attempt towards pathogenetic classification. *Brit. J. Haemat.* **21**, 261 (1971).
11. IWASZKO-KRAWCZUK, W.: Serum lysozyme activity in the small-for-

- dates newborn. Acta paediat. Acad. Sci. hung. **11**, 135 (1973).
12. LISIEWICZ, J., BRYNIAK, C., SROCZYŃKA, K.: N-acetyl-beta-glucosaminidase of lymphocytes in the premature infant with special reference of the fetal development of the lysosomal apparatus. Acta. paediat. scand. **65**, 167 (1976).
  13. LITWACK, G.: Photometric determination of lysozyme activity. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **89**, 401 (1955).
  14. PERILLIE, P. E., KAPLAN, S. S., LEFKOWITZ, E., ROGAWAY, W., FINCH, S. C.: Studies of muramidase (lysozyme in leukaemia. J. Amer. med. Ass. **203**, 317 (1968).
  15. PROKOPOWICZ, J., ZIOBRO, J., IWASZKO-KRAWCZUK, W.: Bactericidal capacity of plasma and granulocytes in small-for-dates newborns. Acta paediat. Acad. Sci. hung. **16**, 267 (1975).
  16. SENN, H. J., CHU, B., O'MALLEY, J., HOLLAND, J. F.: Experimental and clinical studies on muramidase (lysozyme). Acta haemat. (Basel) **44**, 65 (1970).
  17. SZMIGIELSKY, S., OKNINSKA, A., OSTOJSKA, J., MONETA, J.: Serum lysozyme (muramidase) as functional test of granulopoiesis in the course of cytostatic therapy. Folia haemat. (Lpz.) **101**, 935 (1974).
  18. WEISSMANN, G.: Lysosomal mechanisms of tissue injury in arthritis. New Engl. J. Med. **286**, 141 (1972).
  19. WILSON, A. T., HANDLEY, W. P.: Urinary lysozyme. III. Lysozyuria in children with the nephrotic syndrome. J. Pediat. **36**, 199 (1960).
  20. ZUCKER, S., HANES, D. J., VOGLER, W. R., EANES, R. Z.: Plasma muramidase. A study of methods and clinical applications. J. Lab. clin. Med. **75**, 83 (1970).

PROF. DR. L. KARMAZSIN

H-4012 Debrecen Pf. 32.