

# Myastenya Gravis Hastalarında Göz Yaşı ve Serum Laktat Dehidrogenaz ve Laktat Dehidrogenaz İzoenzim Düzeyleri\*

Ömer Faruk Recep (\*), Ayşe Turan (\*), Hikmet Hasripi (\*)

## ÖZET

**Amaç:** Tanısı ve prognozu ile ilgili yeni parametreler belirlemek için myastenya gravisli (MG) hastalarda göz yaşı ve serumda laktat dehidrogenaz (LDH) ve LDH izoenzim düzeylerinin incelenmesi.

**Yöntem:** Bu çalışmaya 20 MG'li, 20 normal kişi dahil edilmiştir. Göz yaşı örnekleri temporal göz yaşı şeridinden kapiller cam tüpler ile alındı. Göz yaşı ve serumdaki LDH ve LDH izoenzim düzeyleri tespit edildi.

**Sonuçlar:** MG'li hastalardaki toplam göz yaşı düzeyi  $288,3 \pm 38,0$  IU/L, kontrol grubunda  $54,6 \pm 12,6$  IU/L olarak bulundu. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı çıktı ( $p < 0,001$ ). Toplam serum LDH düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). MG'li hastalarda kontrol grubuna göre LDH-4 izoenzim düzeyleri daha yüksek, LDH-5 izoenzim düzeyleri daha düşüktü. LDH-1, LDH-2 ve LDH-3 izoenzim düzeyleri anlamlı fark göstermedi. Serum LDH izoenzim fraksiyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmadı ( $p > 0,05$ ).

**Tartışma:** MG'in tanı ve takibi ile tedaviye verdiği cevabın değerlendirilmesinde LDH ve LDH izoenzim düzeyleri kullanılabilir. Ancak takip esnasındaki değişimlerinin incelenmesi amacıyla ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Myastenya gravis, laktat dehidrogenaz, laktat dehidrogenaz izoenzim.

## SUMMARY

**The Tear and serum Lactate Dehydrogenase and Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Levels in Myasthenia Gravis Patients**

**Purpose:** To assess the tear and serum lactate dehydrogenase (LDH) and LDH isoenzyme levels in myasthenia gravis (MG) patients to open new research parameters for diagnosis and prognosis of this disease.

**Methods:** Twenty patients with MG and twenty normal subjects were included in this study. The tear samples were collected from the temporal tear lacuna with capillary glass tubes. The tear and serum LDH and LDH isoenzyme levels were determined.

**Results:** The total tear LDH level of MG patients exceeded the control group by  $288.3 \pm 38.0$  IU/L to  $54.6 \pm 12.6$  IU/L. The difference between these values was statistically significant ( $p < 0.001$ ). the difference between the total LDH serum levels was not statistically signifi-

(\*) Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

\* Bu çalışma 18-23 Haziran 2000 tarihleri arasında İstanbul'da yapılan 6. Uluslar arası Oküler Enflamasyon Sempozyumu'nda sunulmuştur.

Mecmuaya Geliş Tarihi: 22.10.2001

Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 30.11.2001

Kabul Tarihi: 13.03.2002

cant ( $p>0.05$ ). In MG patients LDH-4 isoenzyme levels were found to be higher and the LDH-5 isoenzyme levels were found to be lower than the control group. LDH-1, LDH-2 and LDH-3 isoenzyme levels did not demonstrate any significant difference. There was no statistically significant difference between the serum LDH isoenzyme fractions ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** Tear LDH and LDH isoenzyme levels may be used in the diagnosis and follow-up of MG and its response to treatment, there is need for further research to investigate their changes in the process of the disease.

**Key Words:** Myasthenia gravis, lactate dehydrogenase, lactate dehydrogenase isoenzyme.

## GİRİŞ

Myasthenya gravis (MG) nöromusküler bileşkenin bir hastalığıdır. Nikotinik asetil kolin reseptörlerine karşı otoimmün bir reaksiyon sonucu nöromusküler iletim bozulur (1). MG'de pekçok kas grubunun etkilenmesine rağmen çoğunlukla en önce göz kasları etkilenir. Hastaların %90'dan fazlasında göz dışı kas bozukluğu ve levator palpebra kasında etkilenme görülür (2) ve çift görme ile ptosis gibi problemler meydana gelir.

Aktif dönemlerinde hastalığın önemli bir bulgusu kuru gözdür. Kırpma refleksi azalır ve gözler tam olarak kırılmaz. Göz yaşındaki bozukluk doku hasarına neden olur.

Normal kan, idrar ve beyin omurilik sıvısı incelemelerinde normal değerler tespit edilir (1,3,4). Göz yaşında laktat dehidrogenaz (LDH) artışı doku hasarının bir göstergesidir (5). Bu çalışmada MG'in tanı ve takibi ile ilgili yeni parametrelerin tespiti amaçlanmaktadır. İncelenen parametreler serum ve göz yaşındaki LDH ve LDH izoenzim düzeyleridir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya 1997-1998 yılları arasında Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Kliniği'nde MG tanısı almış 9'u kadın, 11'i erkek toplam 20 hasta dahil edilmiştir. Hastaların yaşları 17-63 arasında olup ortalama  $36,65 \pm 2,61$  idi. Hastalık süresi 2-276 ay arasında değişiyordu (ortalama  $79,68 \pm 19,51$ ). Kontrol grubu göz hastalığı bulunmayan 11 kadın ve 9 erkek olgudan oluşuyordu. Bunların yaşı 18-52 arasında idi (ortalama  $30,7 \pm 1,91$ ). Kontrol grubunda da aynı değerlendirmeler yapıldı.

LDH aktivitesindeki gün içi değişimlerden etkilenmemek amacıyla göz yaşı örnekleri sabah 10:30'da alındı. Bu amaçla kapiller cam tüpler herhangi bir anestetik damlatılmadan temporal göz yaşı gölcüğüne uygulandı. Çevresel faktörler aynı tutularak refleks göz yaşarması engellendi. Örnekler düşük aydınlatmalı bir ortamda alındı. Aynı zamanda hastaların kan örnekleri alındı ve serum izole edildi. LDH-4 ve LDH-5 fraksiyonlarının

bozulmasını engellemek amacıyla tüm serum ve göz yaşı örnekleri 48 saat içinde incelendi.

Toplam laktat dehidrogenaz düzeylerinin incelenmesi için Olympus AU 800 otoanalizörü ve Sigma Diagnostics Lactate Dehydrogenase (LD-L) kiti kullanıldı. 1 ml LD-L reaktifi 50 µl göz yaşı ve serum ile karıştırıldı ve 30°C'de 30 sn. beklendi. 0, 30 ve 60. saniyelerde 340 nm dalga boyundaki emilimler kaydedildi ve emilimdeki fark kaydedildi. LDH aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplandı:

$$\text{LDH aktivitesi (K/L)} = (\Delta A \times TV \times 1000) / (6,22 \times SV \times LP)$$

Burada  $\Delta A$  340 nm'de bir dakikadaki emilim farkını, TV reaksiyon karışımının toplam hacmini, SV örnek hacmini, 6,22 NADH'nin 340 nm'de emilim sabitini, LP dalga boyunu ve 1000 litre-mililitre çevirim sayısını göstermektedir.

Serum ve göz yaşı LDH izoenzim düzeylerinin tespiti için agaroz jel elektroforez tekniği ile Beckman Appraise Dansitometer System cihazı ve Beckman Paragon Lactate Dehydrogenase Isoenzyma Electrophoresis kiti kullanıldı.

İstatistiksel değerlendirmeler Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

## BULGULAR

Serum ve göz yaşı LDH düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir. MG'li hastaların toplam göz yaşı LDH düzeyi  $288,3 \pm 38,0$  IU/L iken kontrol grubunda  $54,6 \pm 12,6$  IU/L olarak bulundu. Fark istatistiksel olarak anlamlı çıktı ( $p<0,001$ ). Toplam serum LDH düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

Tüm olguların göz yaşı ve serum örnekleri LDH izoenzim elektroforezinde incelendi (Tablo 2,3). Bunlardan LDH-4 ve LDH-5 izoenzim düzeyleri arasında anlamlı fark mevcut idi ( $p<0,05$ ). MG'li hastalarda LDH-4 izoenzim düzeyi yüksek, LDH-5 izoenzim düzeyi düşük bulundu. LDH-1, LDH-2 ve LDH-3 enzim düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Serum LDH izoenzim

**Tablo 1.** Serum ve göz yaşı LDH düzeyleri. Altta Mann-Whitney U testi sonuçları verilmiştir. (n=20). LDH: Laktat dehidrogenaz, MG: Myastenya gravis

| Gruplar | Göz yaşı LDH düzeyi (IU/L) | Serum LDH düzeyi (IU/L) |
|---------|----------------------------|-------------------------|
| Kontrol | 54,6±12,6                  | 138,0±3,5               |
| MG      | 288,3±38,0                 | 156,4±8,8               |
|         | p<0,001                    | p>0,05                  |

fraksiyonları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05).

MG hastalarının göz yaşı ve serum LDH izoenzim elektroforez sonuçları istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0,05). LDH-1, LDH-2 v LDH-3 izoenzim düzeyleri serumda, LDH-4 ve LDH-5 izoenzim düzeyleri ise göz yaşında daha yüksek bulundu.

Göz yaşı ve serum izoenzim düzeyleri arasındaki fark kontrol grubunda da istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0,05). LDH-1, LDH-2 v LDH-3 izoenzim düzeyleri serumda, LDH-4 ve LDH-5 izoenzim düzeyleri ise göz yaşında daha yüksek bulundu.

## TARTIŞMA

MG göz kaslarını etkiler ve göz yaşı içeriğini değiştirir. Göz dışı kasları ile ilgili olarak oftalmopleji görü-

lür. Myastenyada meydana gelen parezi göz hareketlerini yavaşlatır (6). Periorbital tonusun yavaşlaması göz yüzeyindeki göz yaşı dolanımını bozar. Göz kırpmaya refleksinin azalması buharlaşmayı artırır ve göz yaşı üretimini azaltır (2). Böylece göz yaşı osmolaritesi artar ve kuru göze ait şikayetler ortaya çıkar. MG hastalarında Schirmer testi orta veya ileri düzeyde kuru göz olduğunu ortaya koymuştur (7).

Göz yaşı biyokimyasının incelenmesinde göz yaşı örneklerinin toplanması büyük önem arzeder. Göz yaşı Schirmer filtre kağıdı ile veya mikrokapiller tüp ile toplanabilir. Filtre kağıdı refleks göz yaşarmasını uyarır ve mekanik irritasyon nedeniyle göz yaşı içeriğinin konsantrasyonlarını değiştirir (8). Schirmer kağıdı ile toplanan göz yaşında LDH düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Van Haeringen ve Glasius, normal kişilerde LDH aktivitesini Schirmer kağıdı ile 2332±237 IU/L, kapiller tüp ile 230±26 IU/L bulmuşlardır. Bu yazarlar LDH'nın epitel hasarının duyarlı bir göstergesi olduğunu kabul etmişlerdir (5). Bizim çalışmamızda konjunktivaya dokunmamak için örnekler kapiller tüplerle alınmıştır.

20 hastadan dördünde düşük veya normal LDH düzeyleri tespit edilmiştir. Bunlardan üçü yeni tanı konmuş, diğeri ise remisyondaki bir hasta idi. Tedavi almayan myastenya gravis hastalarının göz yaşlarında yüksek LDH düzeylerine rastlanmıştır.

Kontrol grubunun göz yaşında bulduğumuz LDH düzeyi benzer yöntemi kullanan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (9). Bildiğimiz kadarıyla MG'li hastalarda göz yaşı LDH düzeyini ölçen bir çalışma bildirilme-

**Tablo 2.** MG hastaları ve kontrol grubunda göz yaşı LDH izoenzim düzeyleri. Altta Mann-Whitney U test sonuçları verilmiştir. (n=20). LDH: Laktat dehidrogenaz, MG: Myastenya gravis.

| Gruplar | LDH-1   | LDH-2   | LDH-3    | LDH-4    | LDH-5    |
|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Kontrol | 1,9±0,3 | 3,2±0,6 | 8,7±1,0  | 24,1±1,2 | 62,1±1,8 |
| MG      | 2,4±0,7 | 3,6±0,5 | 12,1±1,3 | 30,6±2,2 | 51,3±2,9 |
|         | p>0,05  | p>0,05  | p>0,05   | p<0,05   | p<0,05   |

**Tablo 3.** MG'li hastalar ve kontrollerin izoenzim serum düzeyleri. Altta Mann-Whitney U test sonuçları görülmektedir. (n=20). LDH: Laktat dehidrogenaz, MG: Myastenya gravis.

| Gruplar | LDH-1    | LDH-2    | LDH-3    | LDH-4   | LDH-5   |
|---------|----------|----------|----------|---------|---------|
| Kontrol | 27,0±0,6 | 41,1±0,5 | 18,4±0,5 | 6,6±0,3 | 7,0±0,4 |
| MG      | 26,0±1,9 | 40,6±1,6 | 17,5±0,5 | 6,5±0,6 | 9,5±0,2 |
|         | p>0,05   | p>0,05   | p>0,05   | p>0,05  | p>0,05  |

miştir. MG'li hastaların göz yaşındaki LDH artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Kontakt lens kullananlarda da benzer bir duruma rastlanır. Kontakt lensler yeni oluşan göz yaşının dolaşımını bozarlar. Uygun lens takılmamışsa refleks göz kırpması azalır ve kuru göz şikayetleri başlar (10), böylece LDH miktarı artar.

İzoenzimlerden LDH-4 ve LDH-5 düzeylerinde anlamlı bir fark tespit ettik. MG'li hastalarda LDH-4, kontrol grubunda LDH-5 düzeyi yüksek bulundu. Hastalığın ileri evrelerinde kas atrofisi görülür (11). LDH-5 düzeyinin azalması bununla ilişkili olabilir.

MG'li hastalar ile kontrol grubu arasında serum LDH ve LDH izoenzim düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulamadık.

Göz yaşındaki LDH'nın kornea epitelinden kaynaklandığı iddia edilmektedir (12,13). Bu nedenle göz yaşında LDH artışının epitel hasarının bir göstergesi olduğu düşünülmektedir (5,14). MG'li hastaların göz yaşında LDH artışının bir başka sebebi konsantrasyonun artması olabilir.

Göz yaşı LDH ve LDH izoenzim düzeyleri MG'in tanısı, tedaviye cevabı ve takibinde kullanılabilir. LDH ölçüm tekniğinin geliştirilmesi de MG şüphesi taşıyan kişilerin taranmasında kolaylık meydana getirecektir.

## KAYNAKLAR

1. Penn AS, Rowland LP: Disorders of the Neuromuscular Junction. In Merritts Textbook of Neurology Rowland LP (ed). New York, Waverly Co., 1995: 754-761.
2. Walsh TJ: Diplopia. In Neuro-Ophthalmology: Clinical Signs and Symptoms: Walsh TJ (ed). Philadelphia Lea and Febiger, 1992; 156-161.
3. Wallach J: Diseases of Skeletal Muscles, In Interpretation of Diagnostic Tests: Wallach J (ed). New York, Little, Brown and Co., 1996: 269-271.
4. Lennon VA: Serologic profile of MG and distinction from the Lambert-Eaton myasthenic syndrome. Neurology 1997; 48: 523-527.
5. Van Haeringen NJ, Glasius E: The origin of some enzymes in tear fluid determined by comparative investigation with two collection methods. Exp Eye Res 1976; 22: 267-272.
6. Cogan DG: Myasthenia Gravis. In Principles and Practice of Ophthalmology: Albert DM, Jakobiec FA (eds). Philadelphia, WB Saunders Co., 1994; 4: 2482-2490.
7. Phillips LH: The epidemiology of MG in central and western Virginia. Neurology 1992; 42: 1888.
8. Plageman PGW, Gregory KF, Wroblewski F: The electrophoretically distinct forms of mammalian LDH genes: properties and interrelationships of rabbit and human LDH isoenzymes. J Biol Chem 1960; 235: 2288-2293.
9. Ravel R: Cardiac Diseases. In Clinical Laboratory Medicine Ravel R (ed). St. Louis, Mosby Year Book Inc., 1994: 332-334.
10. Rosenthal P, Cotter JM: Contact Lenses. In Principles and Practice of Ophthalmology Albert DM, Jakobiec FA (eds). Philadelphia, WB Saunders Co., 1994; 5: 3621-3648.
11. Amason GW: Myasthenia gravis. In Parker Clinical Immunology Parker CW (ed). Philadelphia, WB Saunders Co., 1980; 2: 1088-1105.
12. Fullard RJ, Carney LG: Diurnal variation in human tear enzymes. Exp Eye Res 1984; 38: 15-26.
13. Kahan IL, Ottoray E: Lactate dehydrogenase of tears and corneal epithelium. Exp Eye Res 1975; 20: 129-133.
14. Ichijima H, Imayasu M: Tear lactate dehydrogenase levels: A new method to assess effects of contact lens wear in man. Cornea 1992; 11: 114-120.