

İMMÜNOİNHİBİSYON KREATİN KİNAZ MB AKTİVİTE ÖLÇÜMÜNÜN YANLIŞ DEĞERLENDİRİLMESİ: TİP I, TİP II MAKRO CK VE CK BB

Muhittin A. SERDAR¹, Serkan TAPAN¹, Yaşar TÜRKMEN¹, İbrahim ONUR¹, Halil YAMAN¹,
Serhat TOKGÖZ¹, Taner ÖZGÜRTAŞ¹, Türker KUTLUAY¹

MISINTERPRETATION OF THE MEASUREMENT OF CREATINE KINASE MB ACTIVITY BY IMMUNOINHIBITION: TYPE I, TYPE II MACRO CK AND CK BB

Summary: Although there are new biochemical tests for the diagnosis of acute myocardial infarction (AMI) which are more sensitive and earlier diagnostic markers, measurement of creatine kinase MB isoenzyme (CK MB) using immunoinhibition method is currently widely used. In this study, 27 of 269 patients with the prediagnosis of AMI who had under gone physical examination, electrocardiogram and repetitive measurements of total CK, CK MB were diagnosed as AMI. Electrophoresis of CK was applied to 65 cases whose CK MB values were increased and not correlated with total CK. Evaluation of CK MB values indicated that 25 cases were determined falsery positive and 3 of them had macro CK-I (MCK-I), 2 of them had macro CK-II (MCK-II) and 2 of them had increased CK BB. Though CK MB/total CK ratio was found higher than 0.25 in all of the cases with detected CK BB, MCK-II and 2 of the cases with MCK-I, this ratio was lower than 0.05 in all 6 cases with various muscular diseases. Consequently, it was determined that MCK and CK BB incidences in the AMI suspicion were similar to those in the normal population. It was also concluded that routine use of CK MB/total CK could give rise to a decrease in the falsery positive cases with elevated CK MB activities and to an increase in the specificity from 89.7 % to 95 %

Key Words: Acute myocardial infarction (AMI), macro CK, CK MB.

Özet: Akut miyokart infarktüsü (AMI) tanısında daha duyarlı ve daha erken tanı konulmasını sağlayan laboratuvar testleri olmasına rağmen, günümüzde en sık kullanılan laboratuvar testi immünoinhibisyon yöntemiyle kreatin kinaz MB (CK MB) izoenziminin ölçümüdür. Bu çalışmada AMİ şüphesi olan 269 hastaya fizik muayene, EKG ve tekrarlayan total CK, CK MB ölçümü yapıldı ve bu hastaların 27'sine AMİ tanısı konuldu. CK MB değeri yüksek ve total CK ile uyumsuz 65 vakaya CK elektroforezi yapıldı. Artmış CK MB ölçüm sonuçlarına göre değerlendirme yapıldığında 25 vakanın yanlış yüksek olduğu saptandı ve bunların 3'ünde makro CK tip I (MCK-I) (%1.1), 2'sinde makro CK tip II (MCK-II) (%0.7), 2'sinde (%0.7) ise artmış CK BB tespit edildi. Artmış CK BB ve MCK-II vakalarının hepsinde, MCK-I li 2 vakada CK MB/total CK oranı 0.25 üzerinde iken; çeşitli kas hastalıkları bulunan veya operasyon geçiren toplam 6 vakada CK MB/total CK oranı 0,05 altında olduğu saptandı. Sonuçta, AMİ şüphesi ile yapılan MCK ve CK BB insidansının normal popülasyonlara yakın oranlarda olduğu ve CK MB yüksekliği bulunan vakalarda CK MB/total CK oranını kullanılarak yanlış pozitif vakaların azaldığı, spesifitenin %89.7 den %95.0 a kadar yükseldiği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Akut miyokart infarktüsü (AMI), makro CK, CK MB



GİRİŞ

Akut miyokart infarktüsü (AMİ) tanısı, klinik bulgular, elektrokardiyogram (EKG) ve serum enzimlerindeki değişimlerin saptanması ile yapılmaktadır (1,2). AMİ tanısında son yıllarda minimal miyokardial hasarını gösterebilen, daha sensitif, çok daha erken dönemde tanı konularak trombolitik tedavinin yapılmasını mümkün kılan biyolojik göstergeçler (myoglobin, troponin T ve I gibi) geliştirilmesine rağmen halen en yaygın kullanılan laboratuvar testi total kreatin kinaz (CK; EC 2.7.3.2) ve bunun MB (CK MB) fraksiyonunun ölçümüdür (3,4,5,6).

CK'nın, kreatin fosforilasyonunu irreversible katalizleyen ve her biri ~80 kDa molekül ağırlığında iki subunitten oluşan (M-kas ve B-beyin) üç izoenzimi bulunmaktadır (CK 3 veya CK MM, CK-2 veya CK MB, CK-1 veya CK BB). Başlıca CK BB beyin, prostat, barsak akciğer, mesane, uterus, plasenta ve tiroid dokusunda, CK MM iskelet ve kalp kasında, CK MB ise kalp kasında (total CK aktivitesinin %25-46 sı) ve çok az oranda ise iskelet kasında bulunur (6,7,8). Bununla birlikte çeşitli araştırmacılar tarafından iki atipik yüksek molekül (>200 kDa) makro CK (MCK) variantı varlığı saptanmıştır (6,7,8,9,10). Tip I MCK (MCK-I), sıklıkla CK BB izoformunun monoklonal IgG nin k hafif zinciri ile immunkompleks oluşumu neticesinde görülür. Tip II MCK (MCK-II) ise elektroforotik olarak CK MM in katoda yakın bölümünde saptanır ve yüksek enerjik aktiviteye sahiptir (7).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan CK MB, serum CK BB düzeyleri ihmal edilerek (normalde serumda <5 U/L bulunur), CK M subunitinin spesifik olarak inhibe edildiği yöntemlerle ölçülmektedir. MCK vakalarında inhibisyonun olmaması, CK BB artışında ise ihmal edilen fraksiyonun artışına bağlı, yalancı yüksek CK MB ölçüm sonuçlarıyla karşılaşılmasına neden olmaktadır (8,9).

MCK insidansı ile geniş gruplarda araştırmalar yapılmasına rağmen AMİ şüphesi olan popülasyonlarda MCK ve CK BB çalışmaları oldukça kısıtlıdır. Bu çalışmada göğüs ağrısı klinik şüphe, EKG bulguları ile Acil Servis ünitesine müracaat eden hastalara, total CK ve CK MB ölçümleri yapılarak AMİ tanısı konuldu. CK MB ile CK uyumsuzluğu olan vakalara serum CK elektroforezi yapılarak MCK ve CK BB'nin yanlış pozitif ölçümleri değerlendirildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ocak 1999-Mayıs 1999 yılları arasında GATA Acil ve İlk Yardım Merkezine ayaktan müracaat eden veya kliniklerde yatan, klinik şüphesi bulunan 269 (32-82 yaşlarında) hastaya Dünya Sağlık Örgütü (WHO) (10) AMİ tanı kriterlerine göre, EKG değerlendirilmesi (T dalgası, ST segmenti değişiklikleri) ve ağrı başlangıcından itibaren en az 4 saat sonra serum total CK ve CK MB ölçümleri yapıldı ve 4 saat aralıklarla enzim ölçümleri tanı kesinleşene kadar tekrarlandı. Kardiyojenik şok, kardiyak arrest, defibrilasyon yapılan ve ağrı başlangıcı üzerinden 24 saat geçen vakalar çalışma grubuna dahil edilmedi. CK ve CK MB değeri yüksek olan ve CK MB/total CK oranı anormal olan 65 vakaya CK elektroforezi yapılarak makro CK ve CK BB varlığı değerlendirildi.

Total CK ölçümü CK-NAC, CK MB ölçümü ise CK MB NAC activated kiti (Boehringer Mannheim, Germany) kullanılarak Hitachi 917 (Boehringer Mannheim, Germany) analizöründe yapıldı.

CK MB ölçümü prensibinde, CK M subunitinin spesifik antikorlar ile inhibe edilerek, kalan CK B aktivitesinin ölçümüyle yapıldı. Ölçülen aktivitenin iki katı alınarak (CK B'nin aktivitesi total MB aktivitesinin yarısı olduğundan dolayı) serum CK MB değerleri belirlendi.

CK elektroforezi Titan Gel-PC CK izoenzim kiti (Helena laboratuvarları, Beaumont, Texas,

USA) ile yapıldı. Elektroforetik olarak agaroz jelde CK fraksiyonlarının ayrımı yapılarak floresan modda Electrophoresis Data Center Dansitometer (Helena laboratuvarları, Beaumont, Texas, USA) ile taranarak değerlendirildi.

AMİ tanısı için testlerin performansının tespitinde diagnostik sensitivite, spesifisite, pozitif öngörü değeri (PÖD) ve negatif öngörü değeri (NÖD) hesaplandı (11). Çalışma sırasında kullanılan Receiver Operating Characteristic (ROC) eğrisi SPSS for Windows 10.0 programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Klinik şüphe ve EKG değişiklikleri sonucundan total CK ve CK MB aktiviteleri ölçülen 269 hastanın 27 sine (%10.0) (37-81 yaşlarında) tekrarlayan enzim ölçümleri, EKG bulguları ve klinik durumlarına göre AMİ tanısı konuldu ve gerekli tedavileri yapıldı. CK ve CK MB değeri yüksek olan ve CK MB/total CK oranı anormal olan 65 vakaya serum CK elektroforezi yapılarak 3 hastada MCK-1 (%1.1), 2 hastada MCK-2 (%0.7)

saptanırken 2 (%0.7) vakada CK BB izoenziminin yüksek olduğu belirlendi. Bu hastalara ait klinik ve laboratuvar sonuçları Tablo.1'de elektroforetik görünümü Şekil.1'de gösterildi.

CK MB ölçümleri (cut off: 24 U/L) 49 (%18.2) vakada yüksek saptanırken, AMİ geçiren 27 vakanın 24'ünde (%8.9) CK MB değerlerinin arttığı gözlemlendi. 3 AMİ (%1.1) bulunan hastanın ilk 12 saat içerisinde yapılan enzim ölçümlerinde artış trendi göstermesine rağmen cut off değerine ulaşılmadığı tespit edildi. Bu 3 hastaya AMİ tanısı EKG bulguları, enzim aktivitesini artış trendi göstermesi ve klinik durumları göz önünde bulundurularak konuldu (Şekil.2).

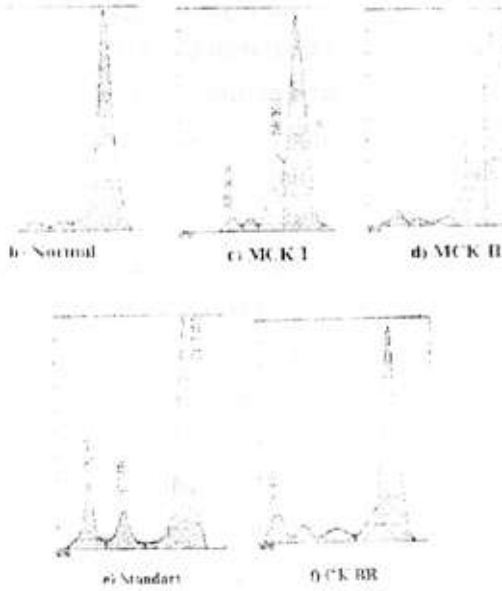
Serum total CK ve CK MB ölçümlerine göre ROC eğrileri Şekil 2'de gösterildi. CK MB değerleri için alan 0.953, total CK ölçümlerinde ise 0.853 olduğu saptandı (Şekil.3).

CK MB sonuçları yanlış yüksek saptanan 25 hastanın 8'inde (%3.0) koroner anjiyografi veya koroner by-pass operasyonu geçirdiği ve tekrarlayan CK MB ölçümlerde artış eğilimi göstermediği tespit edildi. 7 vakada (%2.6) çeşitli nedenlere bağlı olarak MCK ve CK BB artışı saptanırken 2 vakada (%0.7) kas hastalıklarına bağlı olarak CK MM artışlarının hakim olduğu klinik tablo ile tespit edildi (1 scleromiksödem, 1 müküler distrofi). Kas patolojisi bulunan, koroner anjiyogram ve by-pass operasyonu geçiren vakalarda total CK ve CK MB sonuçlarına göre yanlış pozitif

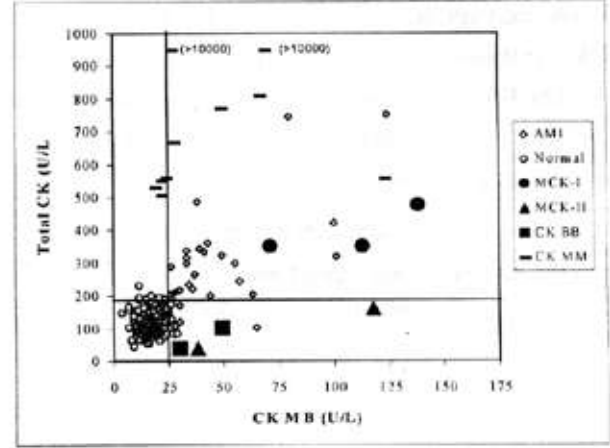
Tablo 1. MCK-I ve MCK-II ve CK BB saptanan vakalara ait laboratuvar sonuçları.

		CK (U/L)	CK MB (U/L)	CK MB/ total CK(%)	CK elektroforezi (%)				TIP
					MM	MB	BB	MCK	
1.	Karsinom sendrom, karaciğer metastazi,	349	71	20.3	73.2	5.5		21.3	MCK-I
2.	Hipertansiyon, total histerektomi ve bilateral salivagooferektomi	352	113	21.7	74.6	3.0		22.4	MCK-I
3.	Ülseratif kolit	476	138	28.9	72.7	3.2		24.1	MCK-I
4.	Küçük hücreli akciğer tümörü, multipl kemik metastazi, perikardial efüzyon	161	118	73.3	53.6	1.8		44.6	MCK-II
5.	Patoloji saptanmadı	39	38	97.4	47.8	4.3		47.9	MCK-II
6.	Diabetes mellitus (Tip II)	38	30	78.9	83.	4.5	11.2		CK BB
7.	Patoloji saptanmadı	103	49	47.6	72.9	5.3	21.8		CK BB

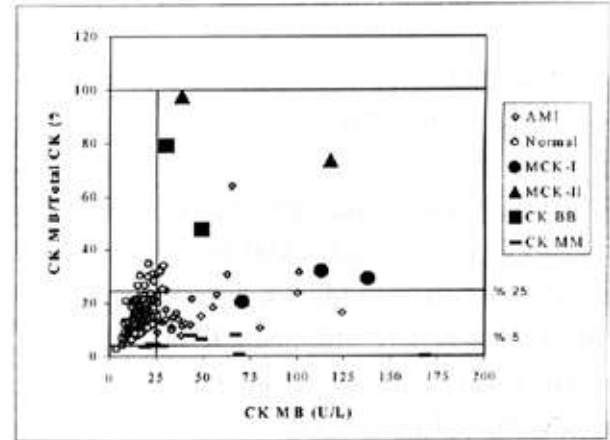
sonuçların arttığı saptandı. Bu grup hastalarda özellikle CK MB/total CK oranının 0.05 altında olduğu gözlemlendi. 25 yanlış pozitif hastanın 13'ünde (%4.8) CK MB/total CK oranı 0.05'in altında veya 0.25 üzerinde olduğu tespit edildi. MCK-I, MCK-II ve CK BB artışı olan 7 vakanın 6'sında (% 85.7) CK MB/total CK oranının 0.25'in üzerinde olduğu saptandı. Sonuçta CK MB ve CK MB/total CK oranı göz önünde bulundurulduğunda spesifikitede belirgin artış olduğu tespit edildi (Tablo.II).



Şekil 1. Kreatin kinaz izoenzimleri ve MCK ve CK BB görüntüleri

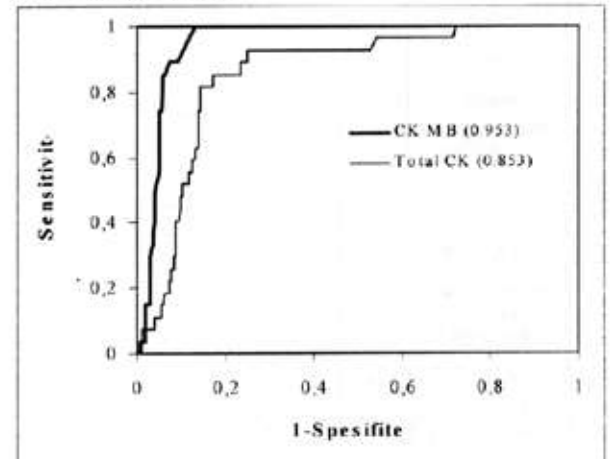


Şekil 2a.



Şekil 2b.

Şekil 2. a) Her bir hastaya ait total CK ve CK MB sonuçlarının cut-off değerlerine göre karşılaştırılması. b) CK MB ve CK MB/total CK oranları arasındaki ilişki



Şekil 3. CK MB ve total CK için ROC eğrileri

Tablo 2. CK ve CK MB ve CK MB/total CK oranlarına ait sensitivite, spesifite, pozitif öngörü değeri (POD) ve negatif öngörü değeri (NÖD).

	Yanlış pozitif	Yanlış negatif	Doğru pozitif	Doğru negatif	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	POD (%)	NÖD (%)
CK MB (Cut-off: 24 U/L.)	25	3	24	217	88.8	89.7	48.9	98.2
CK (Cut-off: 190 U/L.)	31	5	22	211	81.5	87.8	51.2	97.7
CK MB ve CK MB/total CK oranı (0.05-0.25)	13	3	24	229	88.8	93.9	48.9	98.7

TARTIŞMA

Çeşitli araştırmacılar tarafından MCK-I, MCK-II ve CK BB insidans çalışmaları yapılmasına rağmen MCK'nın temelindeki klinik durumlar ve mekanizmaları henüz çok iyi aydınlatılmamıştır (9,12,13).

MCK-I özellikle CK BB ile monoklonal IgG k hafif zincirinin birleşmesi sonucu oluşur. Bu reaksiyon bir antijen antikor reaksiyonu olmasına rağmen CK BB anormallikleri ile ilişkili değildir. Daha az oranda ise CK MM ile IgA arasında oluşabilir (6,14). MCK-I için spesifik bir neden saptanamamıştır. Ancak otoimmün hastalıklar (özellikle ülseratif kolit), kardiyovasküler hastalıklar ve gastrointestinal hastalıklarda ve sağlıklı bireylerde MCK-I daha sık oranlarda saptanmıştır (8,14,15,16). Elektroforetik olarak MCK-I, CK MM ve CK MB arasındadır ve anodal makro CK da denir. MCK-I, random seçilen değişik çalışma gruplarında %0.61, %0.53, kan donör çalışma gruplarında ise %0.23 sıklıkta saptanırken hospitalize hastalarda %6'ya varan oranlarda tespit edilmiştir (6,16,17). MCK-I'e başlıca intestinal adenoma, karsinomlar, vasküler myokard hastalıkları ve yüksek mortalite ile seyreden durumlarda sık rastlanılmaktadır. Bu çalışmada ise 3 vaka (%1.1) tespit edilmiştir. AMİ şüphesi ile CK MB ve total CK ölçümü yapılan vakalarda da normal popülasyonlardan yüksek oranda MCK-I saptanmadığı tespit edildi.

MCK-II oligomerik mitokondrial CK veya katotik MCK olarak da bilinir. Yüksek enerji aktivitesi ve enzim kinetiğine sahiptir (18). MCK-II, değişik yaş gruplarında ve ileri derece malign tümörler, karaciğer yetmezlikleri (özellikle siroz) ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (13,20). Hospitalize hastalarda %0.5-2.6 (6,8,19), popülasyon taramalarında ise %0.4-1.2

arasında saptanmıştır (7,21). Özellikle MCK-II immünoinhibisyon veya iyon değişim reaksiyon prensibi ile yapılan ölçümleri interfere etmektedir. Çalışma sonuçlarımıza göre 2 vakada (%0.74) tespit edilmiş olup MCK-I'nin çalışma grubunda normal popülasyonlarda yapılan çalışmalardakine, yakın oranlarda olduğu tespit edildi.

MCK-I vakalarının her üçünde de total CK düzeylerinin yüksek olduğu saptanırken MCK-II vakalarının her ikisinde de total CK aktivitelerinin normal sınırlar içerisinde olduğu gözlemlendi. Lee ve arkadaşları geniş bir popülasyonda yaptıkları çalışmada MCK-I vakalarının 2/3'ünde total CK aktivitelerini arttırdığını, MCK-II vakalarının ise 3/4'ünde normal sınırlar içerisinde saptamışlardır (7).

Total CK ve CK MB sensitivite ve spesifite sonuçlarının diğer çalışmalar ile uyumlu olduğu saptanmıştır (1,2,10). CK MB ve total CK sonuçlarına göre pozitif öngörü değerinin düşük saptanması, çalışmada klinik şüphe ile ayaktan müracaat eden veya hastanede yatan hastaların çalışma grubuna alınmasına bağlı yanlış pozitif vakaların yüksekliğinden kaynaklanabileceği değerlendirildi. Ancak tekrarlayan ölçümler ve CK MB/total CK oranlarına göre değerlendirme yapılarak yüksek CK MB sonuçlarının belirgin azaldığı saptandı.



Çalışma sonuçlarında MCK tespitlerine ilave olarak çalışma sonuçlarında 2 vakada CK BB artışı tespit edildi (0.74). Sonuçta toplam olarak 7 vakada (%2.6) MCK ve CK BB artışına bağlı yanlış yüksek CK MB sonuçları bulundu.

Her ne kadar özellikle MCK-I'nin CK MB immünoinhibisyon yöntemiyle ölçümleri interfere ettiği belirtilmiş ise de, bu çalışmada MCK-I, MCK-II ve CK BB artışlarının da yanlış olarak CK MB artışına neden olduğu görülmüştür (22,23). Sonuç olarak, CK MB artışlarının klinik durum ve EKG değişimleri ile uyumsuz olduğu vakalarda MCK-I, MCK-II ve CK BB varlığı düşünülerek tekrarlayan ölçümler, CK MB/total CK oranı ve hastaya ait diğer laboratuvar bulguları ortak değerlendirilerek, gereksiz tedavi uygulamalarından kaçınılması gerektiği değerlendirildi.

KAYNAKLAR

1. Joint International Society and Federation of cardiology/World Health Organization task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease [Special reports]. *Circulation*, 1979;59:607-9
2. Lott JA, Stang JM. (1980) Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis [Review]. *Clin Chem*, 26:1241-50
3. Roxin Le, Cullhed I, Groth T, Halgren T, Venge P. (1984) The value of serum myoglobin determination in early diagnosis of acute myocardial infarction. *Acta Med Scand*, 215:417-25
4. Gibler WB, Gibler CD, Weinshenker E. (1987) Myoglobin as an early indicator of acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med*, 16:851-6
5. Ohman EM, Casey C, Bengston JR, Pryor D, Tormey W, Horgan JH. (1990) Early detection of acute myocardial infarction: additional diagnostic information from serum concentrations of myoglobin in patients without ST elevation. *Br Heart J*, 63:335-8.
6. Apple FS, Henderson AR (1999) *Clinical Enzymology*. In Tietz Textbook of Clinical Chemistry (Burtis CA, Ashwood ER), s 1178-1203 WB Saunders Company, Philadelphia.
7. Lee KN. (1990) Relevance of macro creatine kinase Type 1 and Type 2 isoenzymes to laboratory and clinical data. *Clin Chem*, 40: 1278-83.
8. Moss DW, Henderson AR. (1999) *Clinical Enzymology*. In: Tietz: Textbook of Clinical Chemistry (Burtis CA, Ashwood ER), s 657-665 WB Saunders Company, Philadelphia.
9. Sturk A, Sanders GTB. (1990) Macro enzymes: prevalence, composition, detection and clinical relevance (Review). *J Clin Chem Clin Biochem*, 28:65-81.
10. World Health Organisation. (1981) WHO criteria for the diagnosis of acute myocardial infarction. Proposal for the multinational monitoring of trends and determinants of cardiovascular disease. Geneva: WHO.
11. Schultz E. (1999) Selection and interpretation of laboratory procedures. In Tietz: Textbook of Clinical Chemistry (Burtis CA, Ashwood ER) s 310-319 WB Saunders Company, Philadelphia.
12. Mifflin TE, Bruns DE. (1985) Macroamylase, macro creatine kinase, and other macroenzymes (Univ. of Virginia Case Conference). *Clin Chem*, 31: 1743-8.
13. Remaley AT, Wilding P. Macroenzymes: biochemical characterization, clinical significance and laboratory detection (Review). *Clin Chem* 1989;35:2261-70
14. Venta R, Geijo SA, Sanchez AC, Bao CG, Bartolome LA, Casares G, Lopes-Otin C, Alvares FV. (1989) IgA-CK BB complex with CK MB electrophoretic mobility can lead to erroneous diagnosis of acute myocardial infarction *Clin Chem*, 35/9, 2003-8.
15. Whelan PV, Malkus H. (1983) A macro creatine kinase isoenzyme in serum of apparently healthy individuals. *Clin Chem*, 29:1411-4.
16. Tozawa T. (1989) Enzyme-linked immunoglobulins and their clinical significance *Electrophoresis*, 10:640-4
17. Laureys M, Sion J-P, Slabyneck H, Steensens L, Cobbaert C, Derde M-P, Gorus FK. (1991) Macromolecular creatine kinase type 1: a serum marker associated with disease. *Clin Chem*, 37:430-4
18. Rogalsky VY, Koven IH, Miller DR, Pollard A. (1986) Electrophoretics of macro creatine kinase type 2 in serum. *Clin Chem*, 32/1:13-5
19. Kanemitsu F, Kawanishi I, Mizushima J, Okigaki T. (1984) Mitochondrial creatine kinase as tumor-associated marker. *Clin Chim Acta*, 138:175-83
20. Wu AHB, Herson VC, Bowers GN Jr. (1983) Macro creatine kinase types 1 and 2: clinical significance in neonates and children as compared with adults. *Clin Chem*, 29:201-4
21. Urdal P, Landaas S. (1979) Macro creatine kinase BB in serum, and some data on its prevalence. *Clin Chem*, 25: 461-5
22. Mederios LJ, Walsh D, Gerson B. (1986) Interference by macro creatine kinase type-1 with an immunoenzymometric method for quantification of CK-MB in serum (Letter). *Clin Chem*, 32:710-1.
23. Girgenti AJ, Brown MT, Arroyo JG. (1980) Interference with the determination of serum myocardial creatine kinase (CK-MB) by macro creatine kinase activity. *Clin Chem*, 26:977-8.