

577.155.38

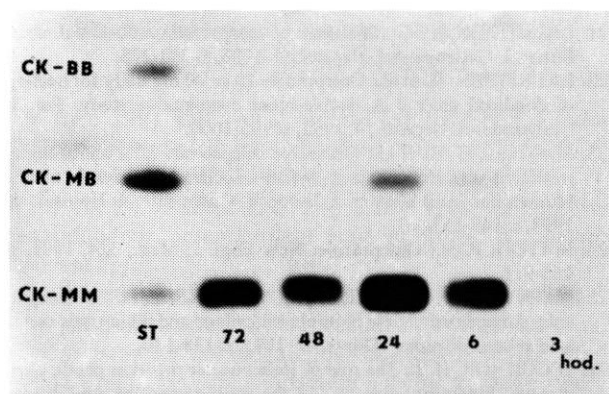
KREATINKINÁZA - ENZYM MNOHA FOREM

Doc. RNDr. Miloš TICHÝ, CSc.
II. interní klinika Fakultní nemocnice, Hradec Králové
(přednosta: prof. MUDr. V. Pidrman, DrSc.)

Kreatinkináza (CK, ATP: creatine N-phosphotransferase, EC 2.7.3.2.) katalyzuje reverzibilní transfer fosfátu mezi ATP a kreatinem. Kreatinfosfát stejně jako ATP obsahuje fosfátový zbytek vázaný makroergní vazbou. Je potřebný pro svalovou kontrakci, relaxaci a intracelulární transport substancí. CK byla poprvé izolována a identifikována v r. 1934 Lohmanem. Nachází se v cytoplazmě jako dimer tvořený podjednotkami M (muscle) a B (brain), každá o mol. hmotnosti 40 000. Možné kombinace monomerů jsou CK-MM (CK-3), CK-MB (CK-2) a CK-BB (CK-1), každý o mol. hmotnosti asi 82 000 (3, 5). CK je přítomna především v kosterním svalstvu, v myokardu a v mozkové tkáni. Kosterní sval obsahuje

především izoenzym CK-MM a asi jen 1 % CK-MB. Srdeční sval obsahuje 80 % CK-MM a 20 % CK-MB a mozek prakticky jen izoenzym CK-BB.

Metody používané ke stanovení izoenzymů CK můžeme obecně rozdělit do následujících pěti kategorií: 1. elektroforéza, 2. chromatografie na iontoměničích, 3. imunoinhibice, 4. imunoprecipitace a 5. radioimunoanalýza. Z těchto metod jsou nejčastěji v klinické praxi používány metody elektroforetické, ať už na agaróze (obr. 1), nebo na gelu acetylované celulózy, a metoda imunoinhibice. Metoda imunoinhibice spočívá ve stanovení celkové aktivity CK, pak je k vzorku séra přidáno kozí antisérum proti lidským podjednotkám CK-M a určuje se zůstatková akti-



Obr. 1. Elektroforéza izoenzymů CK na agaróze (ST = standarda, sérum nemocného akutním infarktem myokardu za 3-72 h po příhodě)

vita podjednotek CK-B. Nejedná se tedy o specifické stanovení srdečního izoenzymu CK-MB, jak by mohlo být chybně interpretováno. Imunoinhibiční metoda doznala velkého rozšíření, protože je vhodná pro použití v automatických analyzátoch.

Protože nejvyšší aktivita CK je v kosterním svalstvu a v myokardu, zvyšuje se sérová CK, především při poškození těchto orgánů. Dnes již klasickým testem je monitorování CK a CK-MB u nemocných akutním infarktem myokardu (4, 10, 16). V posledních letech je používáno stanovení CK i k odhadu velikosti nekrotického ložiska v myokardu a ke sledování úspěšnosti trombolytické léčby. Výjimečně může být u některých nemocných akutním infarktem myokardu pozorována normální aktivita CK (17). Jde vždy o osoby se stabilně extrémně nízkou bazální aktivitou CK. Aktivita CK v séru závisí na věku, pohlaví, rase, na objemu svalové hmoty, na fyzické aktivitě a na dalších faktorech (15). Děti mají obvykle vyšší hodnoty než dospělí, pravděpodobně proto, že jsou fyzicky aktivnější. Muži mají vyšší hodnoty než ženy, protože mají větší objem svalové hmoty. Černoši mají vyšší hodnoty než běloši stejného pohlaví, zřejmě jde o rozdíl daný geneticky. Osoby starší 60 let s úbytkem svalstva vykazují klesající aktivitu CK, takže u těchto starších nemocných může být pozorována normální aktivita celkové CK u infarktu myokardu, ale mají zvýšené procentové zastoupení CK-MB (2).

Izoenzym CK-MM má v lidském séru poločas 16 hodin. Izoelektrickou fokuzací lze tento izoenzym rozdělit na 3-5

subfrakcí (obr. 2), (3, 9, 11, 18). V průběhu poškození tkáně, např. při infarktu myokardu, je ve velkých množstvích vylučována do cirkulace tkáňová forma CK-MM, což je subfrakce CK-MM₃. Tato subforma je hydrolyzována karboxypeptidázou a dochází postupně ke konverzi na subformy CK-MM₂ a CK-MM₁. Stanovení CK subforem (izoforem) v séru se nabízí jako alternativní neinvazivní metoda pro diagnostiku a sledování průběhu akutního infarktu myokardu a úspěchu reperfúze (11). Využívá se především výpočtu indexu MM₃/MM₁, který se zvyšuje již za 2-3 h po infarktu myokardu a vrcholu dosahuje za 9 hodin.

Aktivita CK-MM je zvýšená v sérech nemocných progresivní svalovou dystrofií, u dermatomyositidy, polymyositidy, při hypotyreóze, u akutního infarktu myokardu apod. U Duchennova typu svalové dystrofie se zvyšuje aktivita CK-MM až 90x proti normálu. Stanovení CK je důležitým screeningovým testem u tohoto onemocnění pro potvrzení choroby a detekci nosičů v rodinách s Duchennovým typem svalové dystrofie. CK-MM se také zvyšuje po fyzickém cvičení (1), po intramuskulární injekci (14) nebo po chirurgických zákrocích.

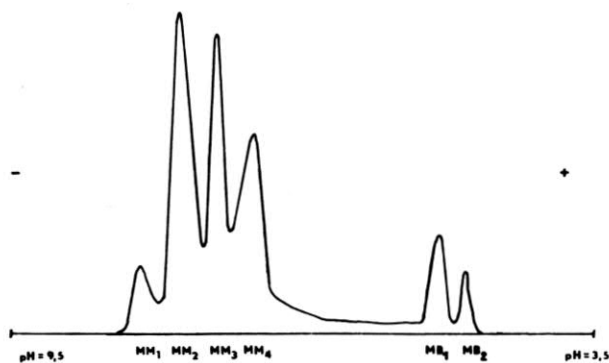
Izoenzym CK-MB má poločas 12 hodin. Při izoelektrické fokuzaci lze u CK-MB prokázat dvě subformy, které jsou přítomny především v myokardu (8). Diagnostický význam CK-MB u akutního infarktu myokardu je vysoký. Za diskriminační limit pro rozlišení infarktu myokardu od poškození kosterního svalstva je považována aktivita CK-MB, která tvoří nejmeně 6 % celkové CK. V průběhu 16 hodin po akutním infarktu myokardu má asi 97 % nemocných pozitivní hodnotu CK-MB (7, 19). V tabulce 1 je uvedena "falešná" pozitivita CK-MB s ohledem na diagnostiku akutního infarktu myokardu (19).

Tabulka 1

FALEŠNĚ POZITIVNÍ CK - MB (mimo AIM)	
VIROVÁ MYOKARDITIDA	ALKOHOLOVÁ MYOPATIE
KARDIOVERZE	RHABDOMYOLÝZA
DUCHENNOVA SVALOVÁ DYSTROFIE	MALIGNÍ HYPERTERMIE
POLYMYOSITIDA	REYŮV SYNDROM
DERMATOMYOSITIDA	ATYPICKÁ CK
VIROVÁ MYOSITIDA	TYP I. MAKRO CK
HYPOTHYREÓZA	TYP II. MITOCHONDRIÁLNÍ CK
AKROMEGALIE	

Citlivost a specifičnost stanovení CK-MB se velmi zvýší, použijeme-li ke stanovení místo metody imunoinhibice metodu na stanovení CK-MB mass. Testy na stanovení koncentrace CK-MB používají různé kombinace specifických monoklonálních protilátek, obvykle myších. Tyto enzymoimunoanalytické metody postupně nahradí metodu imunoinhibice.

Izoenzym CK-BB má velmi krátký poločas - méně než dvě hodiny - následkem vysoké klírens a rychlé inhibice. Za inhibitory CK-BB jsou považovány dimery albuminu a IgG. V séru nemocných s postižením centrálního nervového systému je aktivita CK-BB zanedbatelná, s výjimkou akutní fáze poškození. CK-BB nemůže být detekována v krvi, dokud je intaktní hematoencefalická bariéra. Nález v séru je pozitivní po kontuzích mozku, u nemocných po iktu, kdy koreluje aktivita CK-BB s rozsahem poškození. CK-BB je také považován za jeden z nádorových markerů,



Obr. 2. Densitometrický záznam subforem izoenzymů CK po rozdělení izoelektrickou fokuzací

Tabulka 2

Makroenzymy				
Enzym	Rok objevu	Výskyt	Součást iso-enzymu	Ig
Kyselá fosfatáza	1985	2 pozorování	-	2x IgG
Alaninaminotransferáza	1978	3,2 %	-	IgG
Alkalická fosfatáza	1975	0,1 - 0,4 %	obvykle játra nebo kosti	obvykle IgG-L
Amyláza	1964	1,0 - 3,5 %	S a P	IgG, A, K, L
Aspartátaminotransferáza	1978	13 pozorování	obvykle cytoplasmatický	obvykle IgG
Kreatinkináza Typ 1	1979	0,8 - 2,3 %	obvykle CK-1	obvykle IgG
Kreatinkináza Typ 2	1975	0,5 - 2,6 %	mitochondriální CK	-
Laktátdehydrogenáza	1967	0,03 %	všechny iso-enzymy	IgG, IgA. Hlavně IgG ₃ a IgA-K
Lipáza	1987	1 pozorování	-	IgG

Sturk, A., Sanders, G.T.B.: J.Clin.Chem.Clin.Biochem., Vol.28, 1990, 65-81.

protože bývá prokazován v sérech nemocných některými maligními nádory, např. adenokarcinomem prostaty a prsu (6).

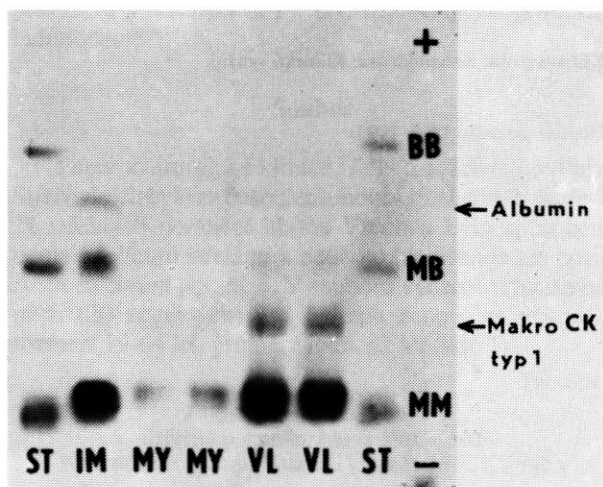
Tabulka 3

TYP I. (IgG + CK - BB KOMPLEX)

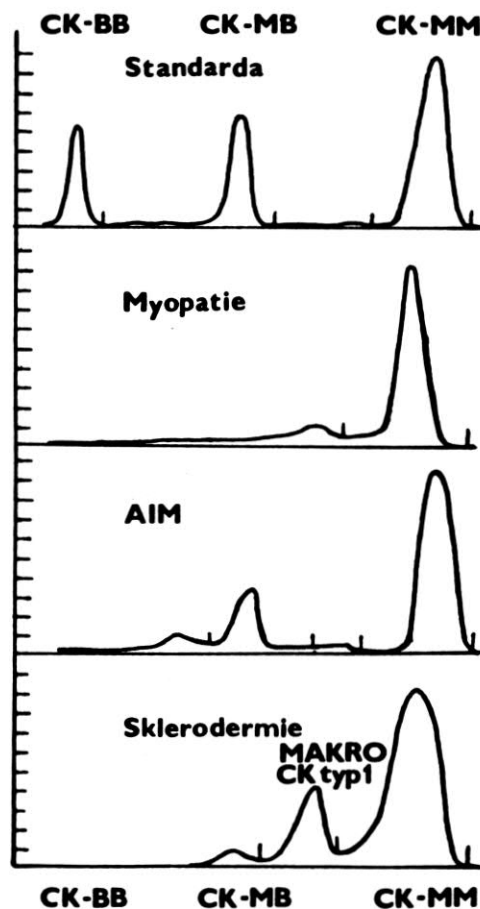
PŘI ELFO MIGRUJE MEZI CK-MM A CK-MB
OBJEVUJE SE VE STÁŘÍ
NORMÁLNÍ NEBO ZVÝŠENÁ CELKOVÁ CK
OBJEVUJE SE U KARDIAKŮ
U HOSPITALIZOVANÝCH NEMOCNÝCH VE 2 %
PŘETRVÁVÁ V SÉRU MĚSÍCE

Stejně tak jako jiné enzymy i CK vytváří makroenzymy (tab. 2). Byly popsány dva typy makroforem CK. Typ makro CK-1 (12) je komplex izoenzymů CK s imunoglobuliny a má relativní molekulovou hmotnost asi 240 000-350 000 (tab. 3). Obvykle je tvořen CK-BB, který váže IgG v poměru 1:1 nebo 2:1. Popsány jsou i komplexy s IgA,

s IgA + IgG, s IgM a s beta-lipoproteiny. Komplex makro CK-1 se při elektroforéze nachází mezi CK-MM a CK-MB (obr. 3, 4). Komplex se netvoří v důsledku abnormální struktury CK, ale vazebné místo je lokalizováno na Fab fragmentu imunoglobulinové molekuly. Makro CK-1



Obr. 3 Elektroforéza izoenzymů CK na agaróze (ST - standarda, IM = sérum nemocného infarktem myokardu, MY = myopatie, VL = nemocný sklerodermií)



Obr. 4 Denzitometrický záznam izoenzymů CK rozdělených elektroforézou na agaróze

je častěji prokazována u žen a u starších nemocných kolem 70 let. Bývá zjišťována v sérech nemocných s progredujícími malignitami a u akutního infarktu myokardu její přítomnost indikuje horší prognózu onemocnění.

Tabulka 4

TYP II. (MITOCHONDIÁLNÍ CK)

NEOBSAHUJE CYTOPLAZMATICKÉ IZO-CK

PŘI ELFO MIGRUJE KATODICKY OD CK-MM
JE SPOJENA SE ZVÝŠENOU AKTIVITOU CELKOVÉ CK
OBJEVUJE SE VE STÁŘÍ
VÝSKYT V POPULACI JE V 1 %
OBJEVUJE SE U TĚŽKÝCH AIM A U PROGREDUJÍCÍCH
MALIGNIT
V SÉRU SE VYSKYTUJE TRANZIENTNĚ PO 1 - 2 TÝDNY

Makro CK-2 (tab. 4) je identická s mitochondriální CK. Má molekulovou hmotnost kolem 300 000, elektroforetickou pohyblivost katodicky od CK-MM. Mitochondriální CK není orgánově nebo tkáňově specifická. Bývá prokazována v sérech nemocných progredujícími malignitami, především gastrointestinálního traktu, a u rozsáhlých infarktů myokardu.

CK tak vytváří nesmírně zajímavý systém izoenzymů, subforem izoenzymů a makroenzymů, jehož experimentální a klinický výzkum pokračuje a přináší další informace o fyziologii a patobiochemii různých forem CK.

Souhrn

Práce shrnuje současné poznatky o kreatinkináze (CK, ATP: creatine N-phosphotransferase, EC 2.7.3.2) doplněné o vlastní dlouholeté zkušenosti. Hodnotí metody určené ke stanovení CK, izoenzymů CK, izoform (subforem) CK a makroforem CK a shrnuje dosavadní poznatky o jejich klinickém využití.

Literatura

1. APPLE, F. S. et al.: Comparison of serum creatine kinase and creatine kinase MB activities post marathon race versus post myocardial infarction. Clin. Chim. Acta, 138, 1984, č. 1, s. 111-118.
2. BILODEAU, L. - PREESE, L. M. - APPLE, F. S.: Does low total

- creatin kinase rule out myocardial infarction? Ann. intern. Med., 116, 1992, č. 6, 523 s.
3. BRAUN, S.: Isoformen der Creatinkinase-Isoenzyme. Klin. Lab., 38, 1992, č. 3, s. 549-554.
4. KANEMITSU, F. - OKIGAKI, T.: Creatine kinase MB isoforms for early diagnosis and monitoring of acute myocardial infarction. Clin. Chim. Acta, 206, 1992, č. 3, s. 191-199.
5. LOTT, J. A. - ABBOTT, L. B.: Creatine kinase isoenzymes. Clin. Lab. Med., 6, 1986, č. 3, s. 547-576.
6. McGING, P. G. et al.: Non-MCK-appractical measure of creatine kinase isoenzymes in cancer patients. Clin. Chim. Acta, 187, 1990, č. 3, s. 309-316.
7. MARKENVARD, J. et al.: The predictive value of CKMB mass concentration in unstable angina pectoris: preliminary report. J. intern. Med., 231, 1992, č. 4, s. 433-436.
8. PANTEGHINI, M. - CALARCO, M.: Serum isoforms of creatine kinase MM and MB in myocardial infarction. An appraisal of quantitative, clinical and pathophysiological information. Scand. J. clin. Lab. Invest., 47, 1987, č. 4, s. 325-329.
9. PANTEGHINI, M.: Serum isoforms of creatine kinase isoenzymes. Clin. Biochem., 21, 1988, č. 4, s. 211-218.
10. PIÉRARD, L. A. et al.: Prognostic significance of a low peak serum creatine kinase level in acute myocardial infarction. Amer. J. Cardiol., 63, 1989, č. 12, s. 729-796.
11. SHIESH - SHU-CHU, - TING, W. K. - JAP, T. S.: Measurement of creatine kinase isoforms by agarose gel electrophoresis in the diagnosis of myocardial infarction. Clin. Biochem., 25, 1992, č. 4, s. 293-301.
12. SCHIFFERLI, J. A. et al.: Macro-creatine kinase type 1. Arch. Pathol. Lab. Med., 110, 1986, č. 5, s. 425-429.
13. STURK, A. - SANDERS, G. T. B.: Macroenzymes: Prevalence, composition, detection and clinical relevance. J. clin. Chem. clin. Biochem., 28, 1990, č. 2, s. 65-81.
14. SURBER, C. - DUBACH, U. C. - FORGÓ, I.: Veränderung der Kreatinkinase - Aktivität im serum nach intramuskulärer Injektion. Klin. Wochenschr., 66, 1988, č. 3, s. 96-102.
15. SWAMINATHAN, R. - HO, C.S. - DONNAN, S. P. B.: Body composition and plasma creatine kinase activity. Ann. clin. Biochem., 25, 1988, č. 4, s. 389-391.
16. TICHÝ, M. - PIDRMAN, V. - GREGOR, J.: Stanovení izoenzymů kreatinkinázy v séru v diagnostice akutního IM. Čas. Lék. čes., 115, 1976, č. 22, s. 662-664.
17. TICHÝ, M. et al.: Pozorování nemocného akutním infarktem myokardu s negativní kreatinkinázou v séru. Biochem. clin. bohemoslov., 20, 1991, č. 5-6, s. 353-362.
18. WILLIAMS, J. - WILLIAMS, K. M. - MARSCHALL, T.: Heterogeneity of serum creatine kinase isoenzyme-MM in acute myocardial infarction. Electrophoresis, 10, 1989, č. 8/9, s. 579-583.
19. WOLF, P.: Common causes of false-positive CK-MB test for acute myocardial infarction. Practic. Cardiol., 11, 1985, č. 8, s. 1-4.

Klíčová slova: Kreatinkináza; Klinické využití.

Do redakce došlo 14. 5. 1993