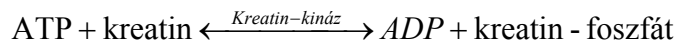
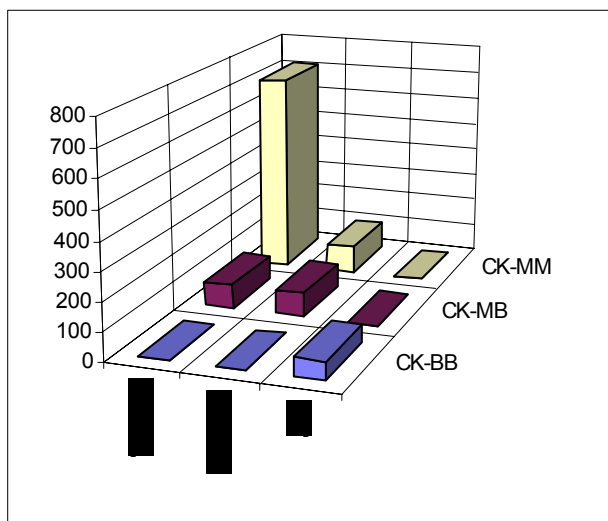


KREATIN-KINÁZ

A *kreatin-kináz* (**CK**) (adenozin-5'-trifoszfát kreatin-foszfotranszferáz, E.C. 2.7.3.2) az átalakulás katalizálja.



Magas a kreatin-kináz aktivitás izomban, szívizomban, agyban. Szérumban is kimutatható a kreatin-kináz aktivitás. A **kreatin-kináz** 80,000 D molekulatömegű, **CK-M** és **CK-B** alegységekből felépülő dimer enzim [M = muscle, izom], B [B = brain, agy]. Három izoenzim típusa különböztethető meg: a **CK-MM** az **izomra**, a **CK-BB** az **agyra**, míg az ún. hibrid forma **CK-MB** a **szívre** jellemző. Az egyes szervekben mért kreatin-kináz aktivitás izoenzim megoszlását az ábra mutatja. Az oszlopok magassága az egyes szervek 1 g tömegére vonatkoztatott enzimaktivitását jelzi.



A kreatin-kináz aktivitás megoszlása az egyes szervekben

A kreatin-kináz klinikai jelentősége

A szérumban az össz kreatin-kináz és a CK-MB izoenzim aktivitása megnő szívizom megbetegedések, szívizom infarktus esetében. Az infarktus megtörténtének laboratóriumi módszerekkel történő bizonyításában kulcsszerepet játszik a kreatin-kináz, az LDH (laktát dehidrogenáz), LDH₁, az ASAT [SGOT] enzimaktivitás meghatározása. Infarktust követően jelentősen emelkedik a szérumban kreatin-kináz aktivitása. Az infarktus valószínűsége magas, amennyiben a szérumban mérhető emelkedett kreatin-kináz aktivitásnak 6-25 %-át a CK-MB aktivitás adja. Az 1. táblázat foglalja össze az infarktus esetén mérhető kreatin-kináz, illetve CK-MB aktivitás értékeket.

	> 25 °C
CK férfiak	> 80 U/l
CK nők	> 70 U/l
CK-MB	> 10 U/l

1. táblázat: Infarktus során fellépő szérumban mért kreatin-kináz és CK-MB aktivitás értékek

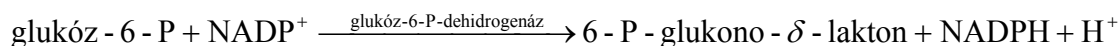
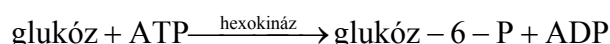
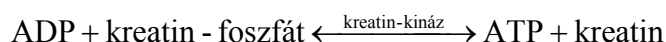
Szívinfarktust követően a kreatin-kináz szérumszintjének gyors és határozott emelkedése figyelhető meg. Szérumban a kreatin-kináz aktivitás növekedése az infarktust követő szöveti sérülések következménye, amely körülbelül 5-6 órával az infarktus után észlelhető először. Az emelkedés 10-12 óra után éri el maximumát. A lezajlott infarktus laboratóriumi módszerekkel leghamarabb éppen ezért a szérumban mért megnövekedett kreatin-kináz aktivitás segítségével igazolható. A biztos diagnózishoz a betegektől a 0., 6., 12. és 24. órában kell vért venni. Kontroll egyének, illetve infarktusos betegek kreatin-kináz aktivitás értékeit (IU/l szérumban) tünteti fel a 2. táblázat.

	MM	MB
Normál szérumban	0-90	0
Myok. Infarktus	50-1000	2-250

2. táblázat Normál és infarktusos egyének szérumból mért kreatin-kináz aktivitás értékek

A kreatin-kináz aktivitás meghatározása

A következő kapcsolt enzimreakciók segítségével határozhatjuk meg a kreatin-kináz aktivitását:



A kapcsolt enzimreakcióban: (1.) a hexokináz használja fel a kreatin-kináz termékét, az ATP-t, (2.) a glukóz-6-foszfát-dehidrogenáz szubsztátja a glukóz-6-foszfát, aminek oxidációja során keletkező **NADPH** koncentrációja fotometriásan meghatározható. A nagy extinkciós koefficiensnek köszönhetően a reakció igen érzékeny ($6,22 \mu\text{mol}^{-1}/\text{cm}^2$). (A rutin laborokban a CK-MB aktivitás meghatározásához a páciens szérumát anti-CK-MB antitesttel kezelik, majd a fentiek szerint meghatározzák a maradék kreatin-kináz aktivitást.)

Oldatok

- 50 mM TRIS-HCl pH 6,8, amiben oldva 1 mM ADP, 20 mM glukóz, 30 mM MgCl₂, 5 mM cisztein, 1 mM NADP és 10 mM kreatin-foszfát

2. Hexokináz (60 U/ml)
3. Glukóz-6-foszfát dehidrogenáz (30 U/ml)
4. Szérum

A gyakorlat kivitelezése

Az alábbi táblázat szerint a következő oldatokat közvetlenül a küvettákba pipettázzuk:

Oldat (ml)	1	2	3
50 mM TRIS pH 6,8	0,9	0,9	0,9
Hexokináz	0,02	0,02	0,02
Glukóz-6-P dehidrogenáz	0,02	0,02	0,02
H ₂ O	0,1	-	-
Szérum * Kontroll	-	0,1	-
Szérum * Infarktusos beteg	-	-	0,1
Extinkció (340 nm-en)			
Enzimaktivitás (IU/L szérum)			

* A reakció indítása

A küvetták tartalmát inkubáljuk 1 percig szobahőn. 5 percen át percenként jegyezzük le az oldatok (2) és (3) abszorpcióját - mérve a redukált NADP⁺ keletkezését 340 nm-es hullámhosszon - az (1) kontroll oldattal szemben. Hasonlítsuk össze az egészséges (2); infarktusos (3) egyén szérum kreatin-kináz aktivitását.

Számolás

$$\text{Szérumaktivitás [IU/l]} = \frac{\Delta A / \text{perc} * 10400}{6,22}$$

A 10400-es szorzó a 0,1 ml szérum minta 1 l-re való átszámolásához szükséges, míg a 6,22-es osztó az extinkciós koefficiens.