

## Casuïstiek

### Ectopische productie van CK-MB bij een patiënt verdacht van een acuut myocard infarct

J.G. BOONSTRA<sup>1</sup>, S.A.G.J. WITTEVEEN<sup>2</sup>, M.B. GORSIRA<sup>3</sup> en E.T. BACKER<sup>1</sup>

Een 76-jarige man werd opgenomen wegens algehele malaise en dyspneu. Klinisch-chemisch onderzoek toonde duidelijk verhoogde waarden in serum van creatine kinase (CK) activiteit, CK-MB-massa-concentratie en CK-MB-index (100x CK-MB-massa-concentratie/CK activiteit). Aanvankelijk werd gedacht aan een acuut myocardinfarct (AMI), maar het electrocardiogram (ECG) toonde geen AMI-specifieke veranderingen, terwijl ook de veranderingen in CK en CK-MB gedurende de opname atypisch waren en er geen karakteristieke veranderingen in het lactaatdehydrogenase elektroforese isoenzym patroon werden waargenomen. De patiënt overleed drie dagen na opname. Bij obductie werd een thymuscarcinoom gevonden in het mediastinum met afmetingen van 10x10x10cm. Het hart werd niet geïnfiltrerd door de tumor en er waren geen macro- of microscopische afwijkingen passend bij een AMI.

Immunohistochemische kleuring met een monoclonaal antilichaam gericht tegen humaan CK-MB liet een aankleuring zien in het cytoplasma van de tumorcellen. Dit experiment suggereert sterk dat de verhoogde CK-MB-massa-concentratie in het serum van de patiënt niet afkomstig was van hartweefsel, maar werd geproduceerd door de tumor. De casus illustreert dat bij een non-traumatische patiënt met verhoogde CK, CK-MB en CK-MB-index maar met atypische symptomen van AMI en een niet-diagnostisch ECG, gedacht moet worden aan een maligniteit als bron van CK-MB.

*Trefwoorden: CK-MB; immunohistochemie; tumor; ectopisch*

CK-activiteit en creatine kinase MB (CK-MB) massa-concentratie in serum zijn algemeen geaccepteerde bepalingen voor de diagnostiek van het acuut myocardinfarct (AMI). Een seriële stijging en daling van zowel de CK als de CK-MB in de eerste 24 uur na het ontstaan van de klachten, zijn bij een verhoogde CK-MB-index (100x CK-MB in µg/l / totaal

CK in U/l) specifiek voor een AMI. Tijdfhankelijke verhogingen in deze enzymen zijn echter ook gerapporteerd bij andere situaties dan een AMI. Hartweefsel schade als gevolg van hartmassage en defibrillatie (1), hartcatheterisatie en "bypass"-chirurgie (2) kunnen resulteren in het vrijkomen van CK en CK-MB in de circulatie. Omdat ook skeletspierweefsel CK-MB bevat, zij het in aanzienlijk lagere concentraties dan hartspierweefsel, kan rhabdomyolyse resulteren in verhoogde concentraties CK en CK-MB in serum. In een dergelijke situatie is de CK-MB-index meestal normaal. Er zijn echter ook situaties beschreven van non-traumatische en post-traumatische rhabdomyolyse waarbij de CK-index verhoogd was, namelijk bij stomp borsttrauma (3), brandwonden (4) en cocaïne intoxicatie (5). In een enkel geval worden verhogingen in CK-MB toegeschreven aan weefsels anders dan hart- of skeletspier, te weten placenta (6) en prostaat (7).

In een aantal patiënten met maligniteiten zijn verhogingen gevonden van CK en CK-MB in serum welke niet van cardiale oorsprong waren en verondersteld werden afkomstig te zijn van het tumorweefsel (review in (8)). De ectopische CK-MB-productie leidde bij deze patiënten in het algemeen niet tot verwarring bij de interpretatie van laboratorium-uitslagen omdat de typische tijdfhankelijke concentratieveranderingen van CK en CK-MB ontbraken.

In dit artikel tonen wij met behulp van immunohistochemie aan dat bij een patiënt met een tijdfhankelijke stijging en daling van CK en een verhoogd CK-MB, het circulerende CK-MB niet toe te schrijven was aan een AMI, maar aan ectopische productie door een thymuscarcinoom.

#### Casus

Een 76-jarige man werd opgenomen met toenemende klachten van algehele malaise en gewichtsverlies. Hij had moeite met slikken, verminderde eetlust en was gedehydrerd. Hij klaagde over dyspneu, maar had geen pijn op de borst. Patiënt was reeds jaren bekend met ernstig emfyseem en was 5 jaar eerder geopereerd wegens een aneurysma aortae thoracalis. Röntgenonderzoek van de thorax liet enige sluiting zien in de rechterlong en iets pleuravocht. Het ECG liet het beeld zien van een oud achterwand infarct en linker ventrikel hypertrofie, zonder aanwijzingen voor een AMI. De patiënt werd geleidelijk meer lethargisch en ontwikkelde melaena. Er werd een afwachtend beleid gevoerd en patiënt overleed drie dagen na opname.

*Afdelingen Klinische Chemie<sup>1</sup>, Cardiologie<sup>2</sup> en Pathologie<sup>3</sup> Diaconessenhuis Leiden*

Correspondentie: Dr. J.G. Boonstra, Klinisch Chemisch Laboratorium, Diaconessenhuis, Postbus 9650, 2300 RD Leiden.  
Ingekomen: 08.12.98  
E-mail: JBoonstra@ckcl.azl.nl

Bij obductie toonde het hart tekenen van een oud infarct. Er waren geen macro- of microscopische veranderingen passend bij een AMI. In het anterior mediastinum werd een gelobde grijswitte tumormassa van 10x10x10 cm aangetroffen. Histologisch betrof het een tumorproces met uitgebreide necrose en een zeer polymorf beeld welke geïncubateerd werd als een thymuscarcinoom.

## MATERIAAL EN METHODEN

### Laboratorium bepalingen

De activiteiten van alkalische fosfatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), aspartaat aminotransferase (ASAT), CK,  $\gamma$ -glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT) en lactaat dehydrogenase (LD) in serum werden bepaald met behulp van een Hitachi 911 analyzer (Boehringer Mannheim) gebruik makend van Boehringer Mannheim reagentia. Met uitzondering van LD werden alle enzymactiviteiten gemeten volgens IFCC aanbevelingen, echter uitgevoerd bij 37°C. De activiteit van LD werd gemeten volgens SFBC/NVKC aanbevelingen (9), met pyruvaat als substraat. CK-MB-massa-concentratie werd bepaald met behulp van een micropartikel immunoassay (MEIA) en een IMx-analyzer (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL). CK en LD isoenzymen werden gedetecteerd met behulp van agarosegel-elektroforese en de relatieve activiteit werd gekwantificeerd met respectievelijk fluorescentie scanning en densitometrie, gebruik makend van reagentia geleverd door Ciba Corning Diagnostics, Palo Alto, CA en Beckman Instruments, Brea, CA.

### Weefselmonsters

Tijdens obductie verkregen tumorweefsel van de patiënt werd gefixeerd in formaline en ingebed in paraffine. Als controle materiaal gebruikten wij hartweefsel van een patiënt overleden aan een AMI en tumorweefsel van een klein-, en een grootcellig longcarcinoom.

### Immunohistochemie

Weefselcoupes werden gedeparaffineerd, gerehydrateerd en gedurende 20 min. geïncubeerd in 0,3% (v/v) waterstofperoxide in methanol om de endogene peroxidase-activiteit te blokkeren. Een "antigen retrieval"-techniek werd toegepast door de coupes gedurende 10 min. te koken in 10 mmol/l natriumcitraat buffer (pH 6,0). Na een wasstap in fosfaat gebufferd fysiologisch zout (PBS) werden de coupes gedurende 18 uur geïncubeerd met 25 mg/l monoclonaal IgG2b antistof gericht tegen gezuiverd humaan CK-MB (BiosPacific, Emeryville, CA) in PBS met 10 g/l runderserum albumine (BSA), of met PBS/BSA alleen. Om de specificiteit van het antilichaam voor CK-MB aan te tonen werd een pré-incubatie toegepast met een 20-voudige molaire overmaat gezuiverd humaan CK-MB (BiosPacific) gedurende 18 uur bij 4 °C, alvorens het toe te passen op de weefselcoupes. Na wassen in PBS werd de binding van de anti-CK-MB-antistof gedetecteerd met de streptavidine-biotine-HRP-complex methode (10). Bij deze methode worden de coupes achtereenvolgens geïncubeerd met gebiotinyleerde konijn-anti-muis-immuunglobulines (Dako,

Glostrup, Denemarken) en HRP-geconjugueerd strept-ABC-complex (Dako) gedurende 30 min. HRP-activiteit werd gevisualiseerd door de coupes te incuberen in 1 g/l 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Sigma, St. Louis, MO) en 0,015% (v/v) waterstof peroxide in 50 mmol/l Tris-HCL buffer, pH 7,6, resulterend in een bruine aankleuring van CK-MB. De coupes werden tegengekleurd met Mayer's Hemaluin oplossing (Merck, Darmstadt, Duitsland), gedehydrateerd en afgedekt.

## RESULTATEN

Tabel 1 laat de uitslagen zien van de laboratoriumbepalingen in het serum van de patiënt op de dag van opname en de twee dagen erna. Er werd een verhoogde activiteit gevonden van LD en CK, terwijl de ASAT-activiteit normaal was. Zowel de CK-MB-massa-concentratie als de CK-MB-activiteit waren verhoogd, terwijl het LD-isoenzym patroon normaal was. Elektroforese van CK-isoenzymen toonde geen aanwijzingen voor macro-CK-activiteit.

Immunohistochemische kleuring van hartweefsel van een patiënt met een acuut myocardinfarct (positieve controle) toonde een aankleuring voor CK-MB in het cytoplasma van de myofibrillen (figuur 1A). Kleuring van het tumorweefsel van onze patiënt resulteerde in een specifieke aankleuring van de tumorcellen (figuur 1C). Deze aankleuring was sterk verminderd na pré-incubatie van de antistof met overmaat antigeen (figuur 1D). CK-MB was zichtbaar in het cytoplasma van de tumorcellen, in sommige cellen als een granulaair patroon. Controle tumorweefsel toonde geen aankleuring voor CK-MB.

### Discussie

Bij opname van de hier beschreven patiënt met dyspneu suggereerden de uitslagen in serum van CK, CK-MB-massa en CK-MB-index een AMI. Het verloop van het enzympatroon in de dagen daarna was echter niet typisch voor een AMI. Typisch voor AMI is een gelijktijdige stijging en daling van het CK en CK-MB (11), terwijl bij de beschreven patiënt de CK-activiteit hoger werd en weer daalde, bij een voortdurend stijgende CK-MB-massa. Bovendien was de ASAT-concentratie niet verhoogd en werd geen LD<sub>1</sub>/LD<sub>2</sub>-"flip" (de LD<sub>1</sub> fractie groter dan de LD<sub>2</sub> fractie) waargenomen. In overeenstemming met deze uitslagen werden geen AMI-specifieke veranderingen gezien op het ECG. Obductie leverde ook geen macroscopische of microscopische aanwijzingen voor een recent infarct. Een AMI als oorzaak van de verhoogde serum CK-MB-concentratie kon dan ook vrijwel uitgesloten worden.

Bij de interpretatie van een verhoogd CK-MB moeten naast AMI een aantal andere oorzaken overwogen worden. Foutief verhoogde concentraties CK-MB kunnen voorkomen wanneer gebruik gemaakt wordt van een immunoassay bij patiënten met heterofiele (humane anti-muis) antistoffen (12). Om dit artefact uit te sluiten werd in het serum van de patiënt tevens de CK-MB-activiteit bepaald met behulp van CK-isoenzym-elektroforese. De resultaten hiervan waren overeenkomstig de immunoassay bepaling. Rabdo-

**Tabel 1.** Laboratoriumuitslagen gedurende de opname

Bepaling (serum)	dag 1 <sup>a</sup> 14.30 uur	dag 2 06.00 uur	dag 3 06.00 uur	Referentie waarden
ASAT, U/L	39	28	35	10-40
ALAT, U/l	21	15	11	5-45
ALP, U/l	144	N.B. <sup>b</sup>	N.B.	30-90
γ-GT, U/l	67	N.B.	N.B.	15-65
LD, U/l	1805	1675	1550	200-450
<i>LD-elektroforese</i>				
LD1, %	19	19	19	17-29
LD2, %	50	54	57	36-50
LD3, %	16	15	13	7-28
LD4, %	6	7	5	1-10
LD5, %	8	4	7	1-8
CK, U/l	833	955	843	40-200
CK-MB, µg/l	129	171	275	<10
CK-MB-index	15	18	33	<2,5
<i>CK-elektroforese</i>				
CK-MM, %	75	N.B.	N.B.	93-100
CK-MB, %	23	N.B.	N.B.	0-6
CK-BB, %	2	N.B.	N.B.	0-2

a: Dag van opname; b: N.B.: niet bepaald

myolyse als oorzaak van de verhoogde CK-MB kon worden uitgesloten omdat er geen klinische aanwijzingen waren voor acute skeletspier schade en er een normale ASAT-activiteit werd gevonden. Bovendien was de CK-MB-index in serum veel hoger dan normaal bij rhabdomyolyse wordt gevonden.

De tumor welke tijdens obductie in het mediastinum van de patiënt werd gevonden had zich niet uitgebreid naar het myocard. Immunohistochemische kleuring van het tumorweefsel liet een duidelijke aankleuring voor CK-MB in het cytoplasma zien, wijzend op productie van het enzym door de eigenlijke tumorcellen. In tegenstelling tot CK-BB is ectopische productie van CK-MB door een tumor ongewoon. In een studie waarbij van verschillende tumoren het CK isoenzym-patroon bestudeerd werd, bleek CK-BB de belangrijkste component te zijn (13). CK-BB wordt frequent gevonden in het serum van patiënten met een maligniteit (14). In een studie naar patiënten met reusceltumoren van het bot en verhoogde CK-BB in serum werd met behulp van immunohistochemie CK-BB aangetoond in het cytoplasma en de kernen van de tumorcellen (15). Verhoogde CK-MB-concentraties in serum bij patiënten met een maligniteit zijn een aantal malen gepubliceerd (16-24). In sommige van deze studies werd CK-MB-activiteit aangetoond in homogenaten van het tumorweefsel (16,20,23). In onze patiënt met een thymuscarcinoom en in een eerder beschreven patiënt met een immatuur teratoom (23,24) wordt met behulp van immunohistochemie CK-MB in het intacte tumorweefsel aangetoond. Het mechanisme van deze ectopische productie en het vrijkomen van het enzym in de circulatie is vooralsnog onduidelijk.

Concluderend beschrijven wij hier een patiënt met een thymuscarcinoom en verhoogde CK-activiteit en

CK-MB-massa-concentratie in serum, bij wie geen electrocardiografisch of histologisch bewijs voor een AMI werd gevonden en die kort na opname overleed. Immunohistochemisch onderzoek van het thymuscarcinoom liet een positieve aankleuring voor CK-MB zien van de tumorcellen. Deze resultaten suggereren sterk dat in deze patiënt het thymuscarcinoom de bron van CK-MB-productie was.

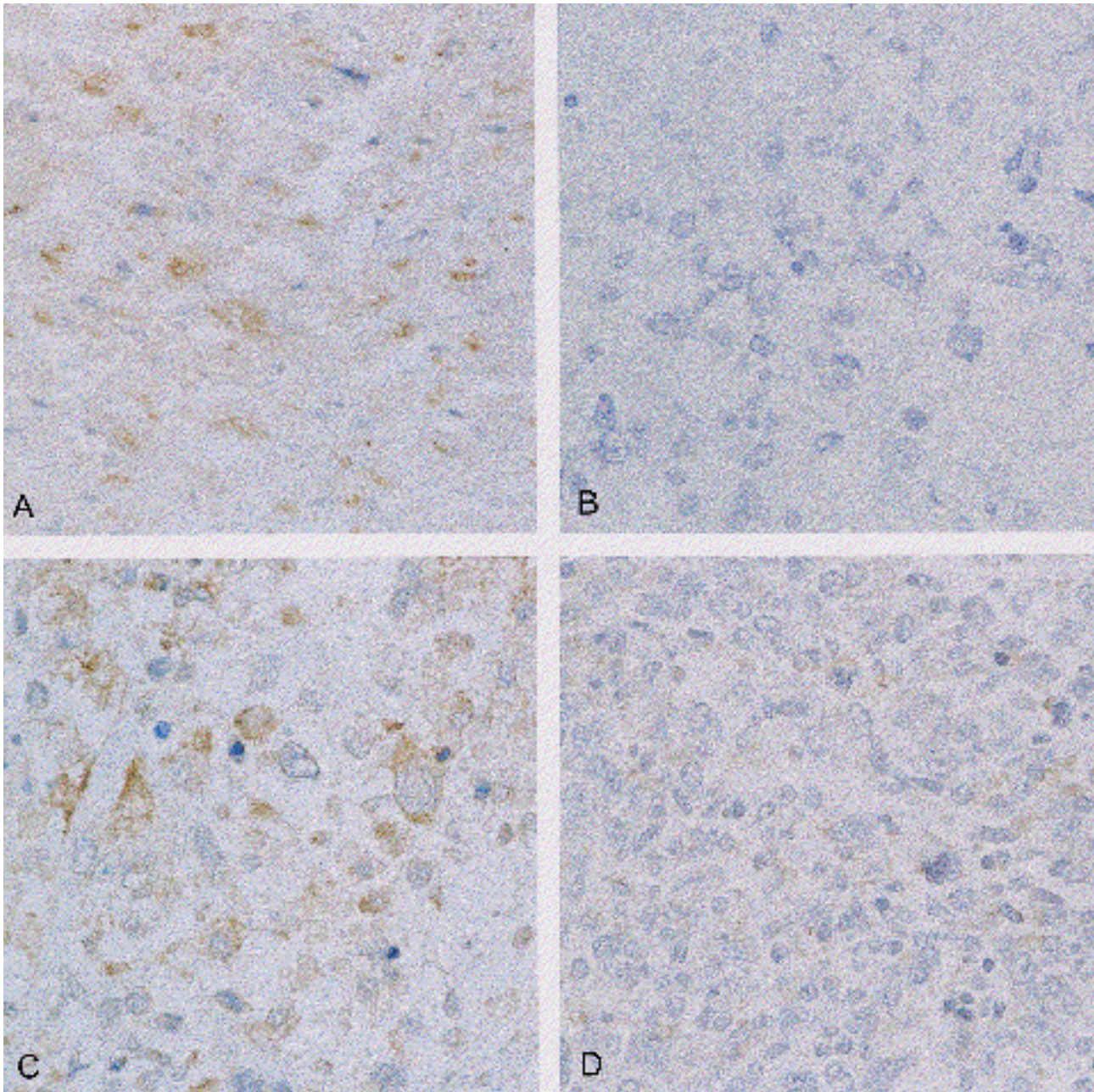
Hoewel zeldzaam, laat deze casus zien dat men bij verhogingen van serum CK, CK-MB en CK-MB-index in een non-traumatische patiënt met atypische symptomen van AMI, bedacht moet zijn op een maligniteit als bron van CK-MB.

#### Dankwoord

Wij danken de heer E. Dreef voor technische assistentie en Dr. V.T.H.B.M. Smit voor waardevolle adviezen.

#### Literatuur

1. Grubb NR, Fox KAA, Cawood P. Resuscitation from out-of-hospital cardiac arrest: implications for cardiac enzyme estimation. *Resuscitation* 1996; 33: 35-41.
2. Wu AHB, Wang X, Gornet TG, Ordonez-Llanos J. Creatine kinase MB isoforms in patients with skeletal muscle injury: ramifications for early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1992; 28: 2396-2400.
3. Benoist J, Cosson C, Mimoz O, Edouard A. Serum Cardiac Troponin I, Creatine Kinase (CK) and CK-MB in early post-traumatic rhabdomyolysis. *Clin Chem* 1997; 43: 416-417.
4. Shahangian S, Owen Ash K, Wahlstrom jr. NO, et al. Creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzymes in serum of patients suffering burns, blunt trauma, or myocardial infarction. *Clin Chem* 1984; 30: 1332-1338.
5. McLaurin M, Apple FS, Henry TD, Sharkey SW. Cardiac troponin I and T concentrations in patients with cocaine-associated chest pain. *Ann Clin Biochem* 1996; 33: 183-186.



**Figuur 1.** Resultaten immunohistochemische kleuring: (A) Hartweefsel van een patiënt met een AMI, aangekleurd met anti-CK-MB-antilichaam. (B-D) Weefsel van het thymuscarcinoom van de beschreven patiënt. (B) Negatieve controle. (C) Aankleuring met anti-CK-MB-antilichaam. (D) Specificiteit-experiment; aankleuring met anti-CK-MB-antilichaam na een pré-incubatie van het antilichaam met een 20-voudige molaire overmaat gezuiverd humaan CK-MB-antigeen. Originele vergroting A-D; 400 maal.

6. Abramov Y, Abramov D, Abrahamov A, Durst R, Schenker J. Elevation of serum creatine phosphokinase and its MB isoenzyme during normal labor and early puerperium. *Acta Obstet Gynecol Scan* 1996; 75: 255-260.
7. Bokesch PM, Long J, Grimaldi R. Cryoprostectomy consistently elevates serum creatine kinase-MB isoenzyme. *J Clin Anesth* 1996; 8: 175-179.
8. Wu AHB, Feng Y, Nadelman J, Acampora M, Fiedler PN. Ectopic production of creatine kinase MB: updated evaluation by mass assays. *Clin Chem* 1997; 43: 2006-2007.
9. Heiden C van der, Bootsma J, Cornelissen PJHC, Hafkenscheid JCM, Oosterom R, Smit EM. Adaptations of the recommendations (NVKC) for the measurements of catalytic activity concentrations of enzymes in serum and plasma. *Tijdschr NVKC* 1987; 12: 231-236.
10. Coggi G, Dell'Orto P, Viale G. Avidin-biotin methods. In: Polak JM, van Noorden S., eds. *Immunocytochemistry, Modern methods and applications*, 54th ed. Bristol: Wright, 1986.
11. Mair J, Artner-Dworzak E, Dienstl A, et al. Early detection of acute myocardial infarction by measurement of mass concentration of creatine kinase-MB. *Am J Cardiol* 1991; 68: 1545-1550.
12. Sosolik RC, Hitchcock CL, Becker WJ. Heterophilic antibodies produce spuriously elevated concentrations of the MB isoenzyme of creatine kinase in a selected patient population. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 506-510.
13. Tsung SH. Creatine kinase activity and isoenzyme pattern in various normal tissues and neoplasms. *Clin Chem* 1983; 29: 2040-2043.

14. Rubery ED, Doran JF, Thompson RJ. Brain-type creatine kinase BB as a potential tumour marker. Serum levels measured by radioimmunoassay in 1015 patients with histologically confirmed malignancies. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1982; 18: 951-956.
15. Fukuda J, Yagishita S, Yamaoka K, Hanihara T, Kushida K, Murayama H. Creatine kinase isoenzyme BB increased in serum and tumor tissue of patients with giant cell tumor of bone. *Clin Chem* 1994; 40: 2064-2065.
16. Annesley TM, McKenna BJ. Ectopic creatine kinase MB production in metastatic cancer. *Am J Clin Pathol* 1983; 79: 255-259.
17. Hickman PE, Messina S, Trotter JM, Masarei JRL. High creatine kinase MB isoenzyme activity associated with a rhabdomyosarcoma. *Clin Chem* 1983; 29: 1549-1550.
18. Liu TZ. Unusually high proportion of creatine kinase MB isoenzyme, evidently of nonmyocardial origin, in serum of a patient with cancer of the prostate [Letter]. *Clin Chem* 1983; 29: 2127.
19. Goffman T, Cantrell J, Schein P. Unexplained increase in serum creatine kinase isoenzyme MB activity in a lung cancer patient. *Clin Chem* 1981; 27: 2068-2069.
20. Lee BI, Bach PM, Horton JD, Hickey TM. Elevated CK-MB and CK-BB in serum and tumor homogenate of a patient with lung cancer. *Clin Cardiol* 1985; 8: 233-236.
21. Wang HC, Lu JY, Ting YM. Elevated serum CK-MB and CK-BB iso-enzymes in a patient with small cell lung cancer: a case report. *Chin Med J (Taipei)* 1995; 55: 270-273.
22. Ng RH, Ethirajan S, O'Neill M, Statland BE. Increased activities of creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzymes in a patient with metastatic ovarian tumor. *Clin Chem* 1987; 33: 1484-1485.
23. Emancipator K, Kudelka AP, Bradford G, Leonard KA, Zarrabi MH. Secretion of creatine kinase MB isoenzyme by an immature teratoma with predominant rhabdomyosarcomatous elements. *Clin Chem* 1988; 34: 2600-2602.
24. Emancipator K, Urankar-Nagy N, Leonard KA, Bradford G, Emancipator SN. Immunohistologic demonstration of myocardial proteins with applications. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 376-380.

---

### Summary

*Ectopic production of CK-MB in a patient suspected for acute myocardial infarction. Boonstra JG, Witteveen SAGJ, Gorsira MB and Backer ET. Ned Tijdschr Klin Chem 1999; 24: 193-197.*

A 76-year old man, hospitalized for general malaise and dyspnea, showed markedly increased creatine kinase (CK) activity, creatine kinase MB (CK-MB) mass concentration and CK-MB index (100x CK-MB mass concentration/CK activity) in serum, suggesting an acute myocardial infarction (AMI). However, there were no electrocardiographic (ECG) signs of AMI, changes of CK and CK-MB during admission were atypical, and no characteristic changes in lactate dehydrogenase electrophoretic isoenzyme pattern were seen. The patient died three days after admission. At autopsy a thymic carcinoma, measuring 10 cm x 10 cm x 10 cm, was discovered in the right lung hilus. The heart showed no invasion by the tumor and there were no signs of AMI. Immunohistochemical staining using a monoclonal antibody against human CK-MB demonstrated cytoplasmic CK-MB in the tumor cells. Herewith we provide evidence that the increased CK-MB in serum was not of cardiac origin, but was produced by the tumor. This case illustrates that increases of serum CK, CK-MB and CK-MB index in a non-traumatic patient with atypical symptoms of AMI and a non-diagnostic ECG should raise the suspicion of a malignancy as the source of CK-MB.

*Key-words: CK-MB; immunohistochemistry; tumor; ectopic*