

CK-BB sérica. Marcador bioquímico en la enterocolitis necrotizante neonatal

M. Samaniego Muñoz, M.R. Sánchez Navarro*

Resumen. *Objetivo.* Se realizó un estudio prospectivo en 72 neonatos pretérmino, considerados "alto riesgo" de padecer Enterocolitis Necrotizante (NEC), en los que se midió la actividad sérica de la isoenzima CK-BB al nacer y tras la alimentación enteral, con el propósito de investigar la utilidad de esta isoenzima en el diagnóstico precoz de la NEC y su eficacia como indicador evolutivo de la enfermedad. *Pacientes y métodos.* En 12 neonatos con NEC, se midió CK-BB en el suero al comienzo de los síntomas y cada 48 horas hasta la remisión del cuadro clínico. Se establecieron 2 grupos control: Uno formado por 26 pretérminos sanos y otro por 20 pretérminos con diarreas de diversa etiología. 14 niños fueron excluidos del estudio por presentar complicaciones en el transcurso del mismo. Las isoenzimas de CK se determinaron por Electroforesis sobre gel de agarosa y se expresaron como porcentaje de la actividad enzimática total. *Resultados.* No se observaron diferencias en los valores de CK-BB entre los grupos control. Al inicio de los síntomas la CK-BB sérica se elevó significativamente en neonatos con NEC en relación con los grupos control ($p < 0,001$) y se mantuvieron elevados hasta la completa remisión de la enfermedad. La CK-BB sérica se mostró como un marcador eficaz tanto en el diagnóstico como en la evolución de la NEC

An Esp Pediatr 1996;44:577-580.

Palabras clave: Creatín quinasa; Isoenzimas de creatín quinasa; Creatín quinasa BB; Enterocolitis necrotizante.

CK-BB IN SERUM AS A BIOCHEMICAL MARKER IN NEONATAL NECROTIZING ENTEROCOLITIS

Abstract. *Objective:* We performed a prospective study of 72 preterm neonates with "high-risk" predisposing them to necrotizing enterocolitis (NEC) in which isoenzyme CK-BB activity in serum was measured at birth and after establishment of feeding with the purpose being to investigate whether CK-BB isoenzyme measurement may be useful in the diagnosis of NEC and an efficient marker in the evolution of the disease. *Design and Methods:* In 12 neonates with NEC, CK-BB was measured in serum, at the beginning of symptoms and every 48 hours until remission of the acute episode. Control data were obtained from 26 healthy preterm and 20 preterm neonates with diarrhoea of several etiologies. Fourteen infants were excluded from the study due to complications. Electrophoresis on an agarose gel was used to determine CK isoenzymes and these are expressed as the percentage of total CK activity. *Results:* There were no differences in CK-BB values between

the control groups. At the beginning of symptoms, the CK-BB in serum was significantly greater in neonates with NEC ($p < 0.001$) than in the control groups and were continuously elevated until complete recovery from NEC. *Conclusion:* The CK-BB was shown as a useful marker in the diagnosis and evolution of NEC.

Key words: Creatine kinase; Creatine kinase isoenzymes; Creatine kinase-BB isoenzyme; Necrotizing enterocolitis.

Introducción

La creatín quinasa (CK, EC 2.7.3.2.) es una enzima intracelular presente en los tejidos bajo tres formas isoenzimáticas conocidas como MM, MB y BB. Se ha demostrado que existen altas concentraciones de CK-BB en la pared del tracto gastrointestinal^(1,2); la CK-BB sérica se ha encontrado elevada en el suero de pacientes con infarto intestinal e incluso se ha referido una relación cuantitativa con el daño tisular^(3,4). La destrucción/lesión de las células de la pared intestinal en la Enterocolitis Necrotizante (NEC) podría condicionar un aumento en la actividad sérica de la creatín quinasa y en especial de su isoenzima BB.

La NEC es la urgencia digestiva más grave y frecuente que se presenta en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN)⁽⁵⁾. Su frecuencia oscila entre el 1 y el 5% de los ingresos⁽⁶⁾ y puede alcanzar hasta el 12% si nos referimos a neonatos de peso inferior a 1.500 g^(7,8). La mortalidad varía según los centros y puede llegar hasta un 40%⁽⁹⁾.

Los casos más graves de NEC presentan signos radiográficos de neumatosis intestinal y/o perforación, pero el diagnóstico es más difícil en aquellos pacientes que tan sólo muestran un patrón radiográfico inespecífico de íleo.

El propósito de este trabajo ha sido investigar la utilidad de la determinación sérica de la CK-BB como marcador precoz en el diagnóstico de la NEC, comprobar su eficacia como marcador evolutivo para volver a introducir la alimentación enteral y determinar si este indicador bioquímico podría ayudar a decidir el iniciar un tratamiento con antibióticos y nutrición intravenosa en los casos de NEC probable y/o dudosa.

Material y métodos

Se hizo un estudio prospectivo en el que se incluyeron 72

Unidad Neonatal. Hospital General "Virgen de las Nieves"

*Departamento de Bioquímica. Hospital Universitario. Granada

Correspondencia: Manuel Samaniego Muñoz

Unidad Neonatal. Hospital General "Virgen de las Nieves". 18014 Granada

Recibido: Marzo 1995

Aceptado: Marzo 1996

Tabla I Peso y edad gestacional de los neonatos estudiados

	<i>n</i>	<i>Peso (gramos)</i>	<i>Edad gestacional (semanas)</i>
Grupo inicial	72	1.652 ± 567	32 ± 3,7
Grupo control			
RN sanos	26	2.005 ± 639	33 ± 2,8
Grupo control			
RN con diarreas	20	1.744 ± 555	32 ± 3,2
Rn con NEC	12	2.215 ± 650	34 ± 2

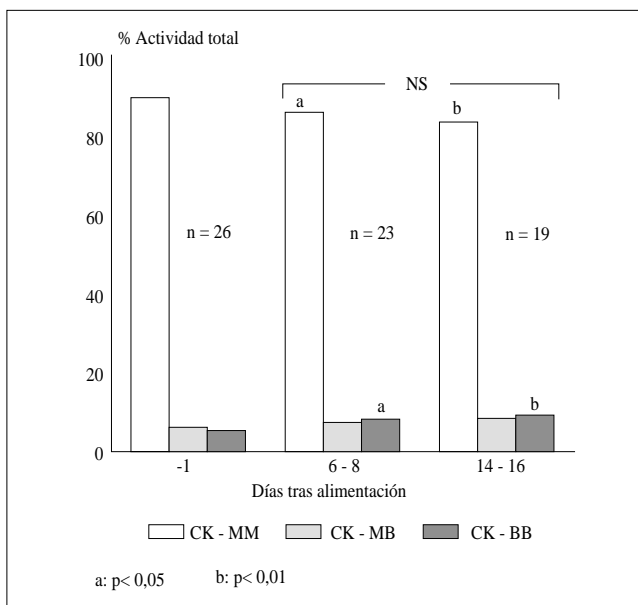


Figura 1. Valores porcentuales de isoenzimas de CK en pretérminos sanos antes y después de la alimentación enteral.

niños, aparentemente sanos, nacidos pretérmino y considerados “alto riesgo” de padecer la enfermedad. De todos ellos se obtuvo, con el objeto de estudiar la posible influencia de la lactancia artificial en los niveles séricos de CK-BB, una muestra de sangre capilar o venosa antes de la primera toma de alimento y de nuevo a los 7 y 15 días del comienzo de la alimentación enteral. El momento de inicio de la alimentación, la concentración láctea y el volumen e incremento diario, siguieron las pautas estandarizadas para este tipo de niños, atendiendo a los criterios habituales de peso y grado de madurez y no fueron modificadas por motivo del estudio.

Doce de estos niños desarrollaron una NEC con heces sanguinolentas, distensión abdominal e imagen radiológica de gas intramural. Se tomaron muestras de sangre el día que se iniciaron los síntomas y se hicieron seguimientos posteriores cada 48 horas hasta la remisión del cuadro clínico, transcurrida una semana se realizó una última extracción.

Tabla II Valores medios ± DS de la actividad total de CK y de sus isoenzimas en los grupos control antes y después de la alimentación enteral

	<i>n</i>	<i>CK Total IU/L</i>	<i>Isoenzimas de CK</i>		
			<i>CK-MM (%)</i>	<i>CK-MB (%)</i>	<i>CK-BB (%)</i>
Antes de la alimentación enteral	26	230 ± 102	88,7 ± 6,5	6,1 ± 3,4	5,2 ± 4,9
Después de la alimentación enteral:					
a) 7 días	23	188 ± 124	84,9 ± 5,8	7,1 ± 3,2	7,9 ± 3,9
b) 15 días	19	169 ± 74	82,5 ± 5,1	8,2 ± 3,3	8,9 ± 4

Se establecieron dos grupos control: Uno formado por 26 recién nacidos (RN) pretérmino, incluidos en el estudio inicial que evolucionaron favorablemente y un segundo grupo formado por 20 neonatos, también pretérmino, con diarreas de diversa etiología en los que la NEC fue descartada. 14 niños fueron excluidos del estudio al presentar, en el transcurso del mismo, complicaciones, de diversa índole, que precisaron tratamiento medicamentoso y en tres casos quirúrgico.

Los sueros fueron separados por centrifugación y las muestras, cuando no pudieron procesarse de inmediato, fueron congeladas a -70°C en un plazo de tiempo no superior a 1 hora desde su extracción, con el objeto de evitar al máximo la inactivación “in vitro” de la isoenzima BB; todas las muestras se analizaron en un tiempo que en ningún caso excedió de 72 horas.

La actividad total de CK, se midió a 37°C en un Autoanalizador Hitachi 704 con reactivos Boehringer Mannheim. Las enzimas se separaron por electroforesis con el sistema Paragon/Beckman, utilizando kits “Creatine Kinase Isoenzyme Electrophoresis”. Se utilizó gel de agarosa tamponado a pH 7. La electroforesis tuvo lugar a 100 voltios durante 20 minutos, terminada ésta, se incubaron los geles con un substrato específico para la enzima durante 20 minutos a 45°C en cámara húmeda.

La cantidad relativa de las bandas se cuantificó midiendo la fluorescencia a 340 nanómetros, en un densitómetro Appraise/Beckman y la actividad de cada isoenzima se calculó como porcentaje de la actividad enzimática total.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el test paramétrico de Student para la comparación de muestras independientes, excepto en la comparación de resultados de actividad enzimática antes y después de la alimentación enteral que se utilizó el mismo método para muestras apareadas, los datos se procesaron con el paquete estadístico RSIGMA para PC⁽¹⁰⁾.

Resultados

En la tabla I se resumen las características de los niños es-

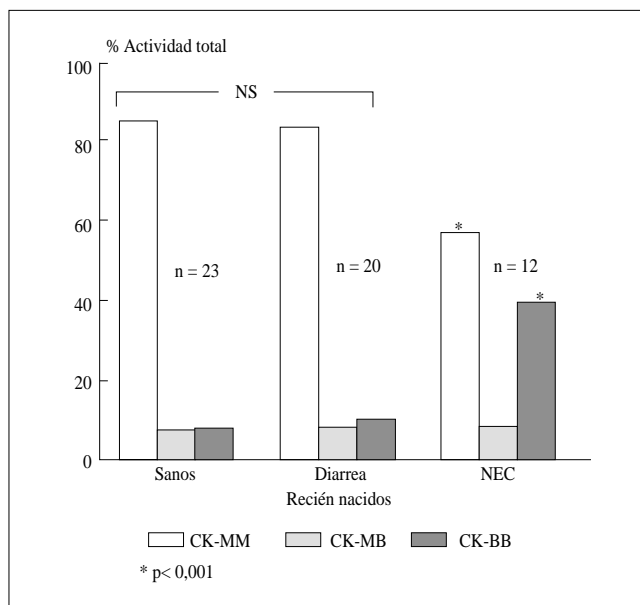


Figura 2. Valores porcentuales de Isoenzimas de CK en pretérminos sanos, con diarreas y con NEC.

tudiados, peso al nacer y edad gestacional.

Se estudió la posible influencia de la alimentación artificial en los niveles séricos de CK-BB (Fig. 1) encontrándose, un aumento significativo ($p < 0,05$) de la actividad de esta isoenzima, en el suero de los RN, una semana después del inicio de la alimentación enteral, significación que fue mayor ($p < 0,01$) transcurridos 15 días de la primera ingesta, la CK-MM disminuyó significativamente mientras que no se apreciaron diferencias en los niveles de CK-MB. Los valores medios y DS se reflejan en la tabla II.

La aparición de los primeros síntomas de NEC tuvo lugar entre el 5 y 21 días de vida con una media de 12,5 días. Se compararon las actividades isoenzimáticas de los niños con NEC y los grupos control formados por RN sanos y RN con diarreas, de características similares en cuanto a días de vida, peso al nacer y edad gestacional (Fig. 2). No se encontraron diferencias entre los grupos control, pero si en los niños con NEC en los que la actividad sérica de la isoenzima BB fue significativamente superior ($p < 0,001$). Los valores medios de actividad enzimática para estos grupos se resumen en la tabla III.

En el momento de la aparición de los primeros síntomas y antes de la confirmación radiográfica de NEC, se hizo una determinación de CK-BB y seguimientos posteriores e independientes de cada caso clínico, a los 2, 4, 6, 8, 15 y 21 días.

La Fig. 3 muestra la evolución de los valores séricos de CK-BB en los 12 casos de NEC estudiados. La isoenzima aparece elevada desde el inicio de los síntomas ($p < 0,01$), alcanza su mayor incremento en las 48-72 horas siguientes ($p < 0,001$), normalizándose hacia el 6°-8° día; en algunos casos se observó una nueva elevación de la CK-BB sérica coincidiendo en todos ellos con el restablecimiento de la alimentación enteral. Los 11 niños

Tabla III Valores medios \pm DS de la actividad total de CK y de sus isoenzimas en recién nacidos con diarreas y NEC

	n	CK Total IU/L	Isoenzimas de CK		
			CK-MM (%)	CK-MB (%)	CK-BB (%)
RN con diarreas	20	158 \pm 98	82,6 \pm 4,9	7,1 \pm 4,1	9,5 \pm 4,4
RN con NEC (inicial)	12	207 \pm 107	55,5 \pm 9,2	6,5 \pm 1,8	37,8 \pm 8,3
RN con NEC (remitida)	10	135 \pm 74	84,3 \pm 5,8	7,9 \pm 4,8	9,6 \pm 3,8

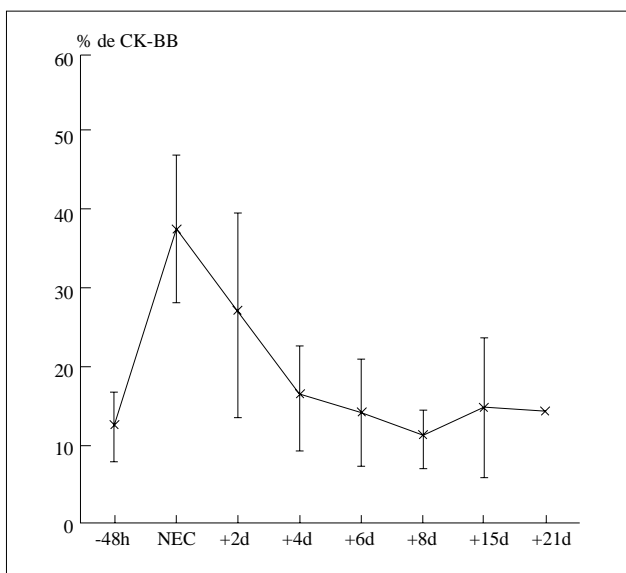


Figura 3. Valores porcentuales medios \pm DS, de la isoenzima CK-BB en 12 casos de NEC. Seguimiento evolutivo desde el inicio de los síntomas hasta la remisión del cuadro clínico.

que evolucionaron favorablemente mostraban, a los 21 días, porcentajes de CK-BB similares a los del grupo control.

Discusión

La enterocolitis necrotizante es una grave enfermedad del recién nacido en cuya patogenia intervienen, además de la isquemia intestinal y la colonización bacteriana, la alimentación enteral artificial⁽¹¹⁾. Encontrar un indicador bioquímico que permita ayudar a decidir cuando puede iniciarse o restablecerse la nutrición enteral en recién nacidos de "alto riesgo"⁽¹²⁻¹⁴⁾, ha sido uno de los objetivos de este estudio ya que hasta ahora ningún marcador analítico ha resultado clínicamente útil^(15,16).

Hemos comprobado como los niveles séricos de CK-BB se elevan en recién nacidos pretérmino sanos tras la alimentación enteral; el hallazgo de una elevación marcada de la isoenzima BB en el suero constituye un buen indicador de daño tisular y podría condicionar la suspensión preventiva de la alimentación enteral.

Todos los casos estudiados presentaron un cuadro grave con distensión abdominal, vómitos o retención alimentaria, presencia de sangre en heces, signos radiográficos de gas intramural y/o perforación. El diagnóstico precoz de la NEC es importante, iniciar un tratamiento con antibióticos y nutrición intravenosa lo antes posible mejora sin duda el pronóstico de la enfermedad⁽¹⁷⁾. Se realizó una determinación de CK-BB al inicio de los síntomas y la isoenzima se mostró como un marcador precoz al presentar porcentajes elevados, en el suero de los recién nacidos que más tarde desarrollarían una NEC, 24 horas y, en algún caso 48 horas, antes de que la enfermedad fuera confirmada radiográficamente. Por otro lado, la actividad de la CK-BB se mantuvo elevada mientras persistió la gravedad del cuadro clínico pudiéndose establecer, a la vista de los resultados, una relación entre las cifras séricas de CK-BB y el grado de daño tisular. Las cifras de la isoenzima BB fueron decreciendo paralelamente a la mejoría de la enfermedad hasta normalizarse completamente al remitir el proceso patológico probando así su eficacia como marcador evolutivo.

Bibliografía

- 1 Swei H. Tsung. Creatine Kinase Isoenzyme Patterns in Human Tissue Obtained at Surgery. *Clin Chem.* 1976; **22**: 173-175.
- 2 Jockers-Wretou E, Giebel W, Pfeleiderer G. Immunohistochemical localization of creatinkinase isoenzymes in human tissue. *Histochem.* 1977; **54**:83-86.
- 3 Michael W.Fried, Uma K. Murthy, Stevens R. :Creatine Kinase Isoenzymes in the Diagnosis of Intestinal Infarction. *Dig Dis Sci.* 1991; **36**: 1589-1593
- 4 Dickens St-Vil, G LeBouthillier, F Lucks, A L Bensoussan, H Blanchard and S Youssef: Neonatal Gastrointestinal Perforations. *J Pediatr Surg.*1992; **27**: 1340-1342.
- 5 Kliegman, RM, Fanarof, AA: Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med.* 1984; **310**: 1093-1103.
- 6 Wilson R, Kanto WP, McCarthy BJ et al: Epidemiologic characteristics of necrotizing enterocolitis: a population-based study. *Am J Epidemiol.* 1981; **114**: 880-87.
- 7 Kliegman RM, Hack M, Fanarof, AA. Epidemiologic study of necrotizing enterocolitis among low-birth-weight infants. *J Pediatr* 1982; **100**: 440-444.
- 8 Andrews DA, Swin RS, Ledbetter D J, Schaller RT, Hatch EY: Necrotizing Enterocolitis in term neonates. *Am J Surg.*1990; **159**: 507-509.
- 9 Ryder RW, Shelton JD, and Ginan ME, : Necrotizing Enterocolitis: A prospective multicenter investigation. *Am. J Epidemiol.* 1980; **112**: 113-123.
- 10 RSIGMA. Base de Datos.Bioestadística. 1990 Horus Hardware S.A. Madrid 28003.
- 11 Bargaño Bassols JM, Figueras Aloy J, Botet Mussons F, Jimenez Gonzalez R: Factores etiopatogénicos de la enterocolitis necrotizante neonatal. *An Esp Pediatr.*1988; **29**:31-36.
- 12 Rickey Wilson, Madeline del Portillo, Emmet Schmidt, Roger A. Feldman and P.Kanto: Risk factors for Necrotizing Enterocolitis in infants weighing more than 2.000 grams at birth: A case-control study. *Pediatrics.* 1983; **71**: 19-22.
- 13 Christopher L, Meyer, Nathaniel R. Payne and Stacy A. Roback: Spontaneous, isolated itestinal perforations in neonates with birth weight < 1.000 g not associated with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg.* 1991; **26**: 714-717.
- 14 Primahak R A, Simmonds E: Firts day serum creatine kinase BB isoenzyme in high-risk infants. *Eur J. Pediatr.*1991; **150**: 271-273.
- 15 Isaacs D, North J, Lindsell D, Wilkinson AR: Serun acute phase reactans in necrotizing enterocolitis. *Acta Pediatr. Scand.* 1987; **76**: 923-927.
- 16 Richardson CJ, Rassin DK, Mills R Lobe T E. Hexosaminidase; potential biochemical marker for necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Pediatr Res.* 1983; **17**:332-335.
- 17 Evrard J, Khamis J, Rausin L, Legat C and Langhendries JP: A scoring System in predicting the risk of intestinal stricture in necrotizing enterocolitis. *Eur J Pediatr.*1991; **150**:757-760.
- 18 Keinhaus S, Weinberg G, Gregor M B: Necrotizing enterocolitis in infancy. *Surg Clin North Am.*1992; **72**: 261-276.