

Makroenzimler

Nuran TÜRKÇAPAR¹, Ali ÖZDEN²

Ankara Üniversitesi, Sağlık Kültür ve Spor Dairesi Başkanlığı, İç Hastalıkları ve Romatoloji Uzmanı¹, Ankara

Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı², Ankara

Serum enzim aktivitelerinin araştırılması, rutin laboratuvar incelemeleri içerisinde en yaygın kullanılan uygulamalardır. Normal sınırlarının üzerinde çıkan enzimler, birçok hastalığın göstergesi olabileceği gibi, makroenzim varlığına bağlı da olabilir.

Makroenzimler, normalden daha büyük molekül ağırlığına sahip self polimerizasyon veya diğer serum bileşenleri ile kompleks oluşturmuş enzimlere verilen genel bir ad olup, fizyolojik veya patofizyolojik olarak gelişebilirler. İlk kez 1964 yılında Wilding ve ark tarafından amilaz için tanımlanmış, ancak daha sonraları lipaz, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH), kreatin fosfokinaz (CK), gama glutamiltransferaz (GGT), alkalen fosfataz (ALP) ve asit fosfataz (AP) enzimleri için de benzer tanımlamalar yapılmıştır. Bugün dahi birçok laboratuvar

rutin taramalarda makroenzimler bakılmamaktadır. Ayrıca tanıda bir çok ileri tetkik, hatta invaziv araştırmalara gidilmekte ve gereksiz mali yük getirmektedir. Makroenzimlerin sağlıklı popülasyonda görülme sıklıkları konusunda kapsamlı araştırmalar olmamakla birlikte, literatürde makroamilazemi için bu oran %1, makro-CK için %2'nin altında verilmiştir.

Biyokimyasal olarak makroenzimler iki grup içinde sınıflandırılabilir: tip 1 makroenzimler ve tip 2 makroenzimler.

I. TİP-1 MAKROENZİMLER:

İmmünglobülinler ve plazma enzimlerinin bağlanması ile oluşurlar. Tablo 1'de immünglobülin bağlı makroenzimler ve immünglobülin tipleri gösterilmektedir. İmmünglobülin bağlı makroenzimlerin özelliklerini şöyle sıralayabiliriz:

Tablo 1. Hasta serumlarından izole edilen Tip-1 makroenzimler

Makroenzim	Teşhis	Ig Tipi	Ig'nin Spesifliği
ALT	Kronik hepatit	IgG	Veri yok
ALP	Çeşitli tanılar	IgG, IgA	İzoenzim spesifik
Amilaz	Çeşitli tanılar	IgA, IgG	Nadiren izoenzim spesifik
AST	Sağlıklı kişiler, çeşitli tanılar	IgG, IgA	Kısmen spesifik
GGT	Hepato-bilyer hastalıklar	IgA	Veri yok
CK	Sağlıklı kişiler, çeşitli tanılar	IgG, IgA	BB-spesifik
LDH	Sağlıklı kişiler, çeşitli tanılar	IgA, IgG	Çoğu H veya M spesifik
Lipaz	Hodgkin lenfoma	IgG	Lipaz-spesifik
AP	Çeşitli tanılar	IgG	Veri yok

ALT: Alanin amino-transferaz, ALP: Alkalen fosfataz, AST: Aspartat amino-transferaz, GGT: Gama glutamil transferaz, CK: Kreatin fosfokinaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, AP: Asit fosfataz

1. Ağır ve hafif immünglobülin zincirlerini bağlanabilirler. Amilaz ve LDH hariç diğer bir çok makroenzim gamma ağır zincirini içerir. Amilaz ve LDH ise daha çok IgA ile bağlanırlar. Nadiren IgM ile bağlanırlar, IgD ve IgE kaynaklı makroenzimler ise henüz bildirilmemiştir. Hafif zincir bağlanmasına örnek, tamamıyla kapalı hafif zincirinden yapılmış IgA kaynaklı makro-LDH'dir. Hafif zincir bağlanması, serum enzimlerine karşı immün yanıtın monoklonal olması nedeniyle ilgi çekicidir. Literatürde serum enzimleri ile reaksiyon veren monoklonal paraproteinlere sahip lenfoproliferatif hastalıklar bildirilmiştir. Sonuç olarak, serum enzimlerine karşı immün yanıt monoklonal olduğu kadar poliklonal özellik de gösterebilmektedir.

2. Serum enzimleri ile bağlanan immünglobülinler spesifik olduğu kadar nonspesifik de olabilir. Bazı antikorlar enzimin sadece belli izoenzimleriyle reaksiyon verirken, diğerleri tüm izoenzimlerle reaksiyon verebilir. Örneğin, amilazın enzim immün-enzim kompleksleri genellikle tükrük ve pankreatik amilazın her ikisini birden içerir. Muhtemelen bu iki izoenzimin ortak aminoasit dizilimine sahip bölgesinin, antijenik özellik taşımasından kaynaklanmaktadır. Buna karşın ALP'a karşı antikorlar sadece spesifik ALP izoenzimleri ile reaksiyon verirler. ALP izoenzimleri 2 ana antijenik grupta bulunurlar; plasenta-ince barsak grubu ve karaciğer-kemik grubu. Bir anti-ALP antikoru, iki antijenik gruptan birisi ile reaksiyon verirse diğeri ile vermemektedir. H ve M alt gruplarını tetramer halinde içeren LDH'nın antijenitesi, sadece alt grupların yerleşimi ile değil aynı zamanda geometrik düzenlenmesine de bağlıdır. Anti-LDH antikorları için 3 tip spesifik bağlanma tanımlanmıştır:

a. M ile (LDH 2-5) veya H ile (LDH 1-4) reaksiyon verenler,

b. H ve M alt gruplarının (LDH 1-5) her ikisi ile reaksiyon verenler, ve

c. H ve M alt gruplarını içeren (LDH 2-4) izoenzimlerle reaksiyon verenlerdir. IgA kapalı antikorları tercih olarak LDH-3, daha az LDH-2 ve LDH-4 ile reaksiyon verirler ve üçüncü gruba girerler. Amilaza karşı antikorlar, amilazın aktivite gösteren bölgesinin yakınına bağlanarak, amilazın aktivasyon bölgesini baskılar, bu da NAD⁺ bağlayan bölge için, IgG tipi anti-LDH antikorlarının NAD⁺ ile yarışa girmesiyle olmaktadır.

3. Serum enzim aktiviteleri üzerine etkileri: Amilaz düşük molekül ağırlıklı (~55000Da) bir proteindir ve böbreklerden atılır, buna karşın makro-amilaz

yaklaşık 210 000 Da ağırlığında olup böbreklerden atılamaz. Makro-amilazın azalmış renal klirensi, dolaşımında birikmesine neden olur. Ancak bu enzimler, retiküloendotelial sistem tarafından uzaklaştırılırlar. Bir çok bildiri de makroenzimlerin serumda artmış enzim aktiviteleri rapor edilmesine rağmen, makroenzimlere sahip bir çok hastanın normal enzim aktivitesine sahip oldukları da gösterilmiştir. Rastgele bir taramada, makro-amilazemi bulunana 16 hastadan sadece ikisinde artmış serum amilaz aktivitesine sahip olduğu saptanmıştır. Makro-CK'lı hastaların %0.5'inden daha azında serumda artmış CK seviyesi saptanmıştır. Makro-LDH'lı hastalarda serum LDH enzim aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir.

4. Antikoron konsantrasyonu: Vakaların çoğunda antikor konsantrasyonu dolaşan enzim miktarından fazladır, fakat altta yatan hastalık düzeldikçe, antikor konsantrasyonunun da azaldığı görülmüştür.

NİÇİN ANTI-ENZİM ANTİKORLARI GELİŞİYOR?

Bu konu tam olarak açıklığa kavuşmamıştır, fakat otoantikor oluşumu için iki klasik teori ileri sürülmektedir; antijen-sapması (diversity) ve immün toleransın bozulması teorileridir.

Antijen-sapma teorisi iki şekilde olabilir; moleküler benzerlik veya saklı self antijenlerin ortaya çıkması. Moleküler benzerlik teorisi, bir self antijen, yabancı bir antijene moleküler benzerliği nedeniyle ona karşı gelişen antikorla reaksiyon verebilmesidir. Amilaz için bu teori öne sürülmüştür. Günlük diyetimiz içinde tükettiğimiz hayvansal gıdalarla, hayvansal amilaz gibi birçok yabancı antijeni de birlikte alıyoruz. Gelişebilecek çapraz bir reaksiyon sonucunda makro-amilazemi gelişebilir. Gastrointestinal sistemin mukozal yüzeyinde IgA tipi antikorlar önemli rol aldığından, bu durum makro-amilazeminin özellikle IgA tipi antikorlardan oluşumunu da açıklayabilir. Doku yaralanması ile ortaya çıkan enzimler, bir takım proteazlar ve diğer hidrolitik enzimlerin etkisi ile immünojenik hale gelebilir. Miyokard infarktüsü sonrası hastalarda anti-LDH ve anti-CK antikorlarının gelişmesi, bu teoriyi desteklemektedir. Miyokard infarktüsünden haftalar sonra Dressler sendromu gelişen hastaların serumunda, anti-troponin, anti-myosin gibi anti-kardiyak antikorlar oluşmaktadır. Sekestre (saklı) self antijenin, self-reaktif olarak tanınması teorisine bir örnekte beyin hasarı gelişen infantlarda, anti-CK-BB antikorlarının gelişmesidir.

İmmün toleransın bozulması, diğer otoimmün hastalıklarla ilişkili anti-enzim antikorlarını açıklayan en önemli modeldir. Örneğin makro-amilaz sıklıkla romatoid artrit, sistemik lupus eritematosus, ankilozan spondilit, kriyoglobulinemi, AIDS ve inflamatuvar barsak hastalıklarında görülmektedir. Makro-LDH'nın, inflamatuvar barsak hastalığı, ilaca bağlı hemolitik anemiler ve diğer otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Celiac hastalığı bulunanlarda, glutensiz diyetle tedavi sonrasında makro-amilazeminin kaybolduğu gösterilmiştir. Yine yeni tanı almış 23 celiac hastasının %16,8'inde makro-amilazemi saptanırken, glutensiz diyet alanlarda bu oran %7'lere düştüğü gözlenmiştir. Bazı makroenzimli hastaların laboratuvarında, T-helper/T-supressör oranında artma, immün globülin konsantrasyonunda artma ve ANA pozitifliği gibi immün sistemde bozulmaya işaret eden değişiklikler vardır. Selektif IgA eksikliği ile birlikte gösteren bir makro-amilazemili vaka bildirilmiştir. Ancak anti-enzim antikorlu hastaların tümünde klinik veya laboratuvar olarak immün bozukluk bulunmamaktadır. Anti-CK antikorları bulunan 14 hastanın immünolojik taramasında, otoimmün hastalıkla ilişkili HLA haplotipinin artmış sıklığı dışında, kontrol grubuyla farklılık görülmemiştir. Genetik olarak makroenzimlerin taşındığına dair kanıt bulunmamakla birlikte, literatürde ailesel makro-amilazemili vakalar da bulunmaktadır.

İMMÜNGLOBÜLİN BAĞLI MAKROENZİMLERİN KLİNİK ÖNEMİ

Anti-enzim antikorlarının konsantrasyonları, altta yatan hastalığın şiddetine bağlı olarak dalgalı seyir gösterdiği bildirilmiştir. Anti-enzim antikorları, diğer otoantikorların neden olduğu hastalıklarda olduğu gibi, aynı 3 mekanizma ile hastalığa neden olurlar: a) immün kompleks depolanmasıyla, b) antijenik fonksiyonla ve c) antijeni ekspresyon eden hücreler üzerinde direk sitotoksik etki yoluyla. Anti-enzim antikorlu hastalarda, serum

enzimlerinin immün kompleksi gösterilmiştir. Fakat immünglobülin bağlı makroenzimli hastalarda, SLE gibi diğer birlikte bulunduğu hastalıklara bağlı immün kompleks bulunmadıkça, immün kompleks hastalığı gelişmemektedir. Serumdaki makroenzimlerin ekstrasellüler katalitik rolleri olmadığından, dolaşan anti-enzim antikorlarının enzim fonksiyonu bulunmamaktadır. Anti-amilaz antikorlarının sitotoksik rolü üzerine, makro-amilazemili ve diğer makroenzimli hastalarda artmış malabsorbsiyon ve kanın ağrısı insidansını açıklayacağı öne sürülmektedir. Ancak anti-enzim antikorları ile hastalık arasındaki ilişki tam olarak ortaya konulmamıştır. Çünkü, anti-enzim antikorları bir çok sağlıklı kişide de görülmektedir. Bu nedenle eğer bir ilişkilendirme yapılacaksa, hastalığın bir sonucu olarak anti-enzim antikorlarının geliştiği düşünülebilir, tersi yani kendilerinin tek başına bir hastalığa neden oldukları açıkça gösterilememiştir.

II. TİP-2 MAKROENZİMLER:

İmmünglobülin bağlı olmayan makroenzimlerdir. Tablo 2'de immünglobülin bağlı olmayan makroenzimler ve oluşum mekanizmaları gösterilmiştir. Amilaz, immünglobülinlerle kompleks oluşturması yanı sıra, volüm replasmanı için kullanılan hidrosietil nişasta ile de bir kompleks oluşturabilir. Amilaz doğal substratına benzediğinden, hidroksi-etil nişastaya bağlanır. Hidroksi-etil nişasta-amilaz kompleksi yüksek moleküler kitleye sahip olup böbreklerce atılamaz ve serumda birikir. Amilazın bu tipi ile sık karşılaşılmaz ancak, sürekli yeni çıkan ilaçlar ve diğer ürünlerin serumdaki enzimlerle kompleks form oluşturabileceğinden, bu mekanizma akıldan tutulmalıdır.

Bir diğer örnek, tripsin gibi serum proteazlarının serumdaki yüksek moleküllü protein α 2-makro-globülinle kompleks oluşturmasıdır. α 2-makro-globülin, bağlandığı proteazın aktivitesini inhibe eder ve bu olayın proteazlara bağlı doku hasarının kontrolünde önemli rolü olduğu düşünülmektedir.

Tablo 2. Hasta serumlarından izole edilen Tip-2 makroenzimler

Makroenzim	Teşhis	Oluşum Mekanizması
ALP	Hepato-bilyer hastalık	Lipoproteinle ilişkili
Amilaz	İatrojenik	İlaçlarla ilişkili
GGT	Hepato-bilyer hastalık	Lipoproteinle ilişkili
CK	Karaciğer hastalığı, maligniteler	Self-polimerizasyon
Lösin aminopeptidaz	Hepato-bilyer hastalık	Lipoproteinle ilişkili

ALP: Alkalen fosfataz, GGT: Gama glutamil transferaz, CK: Kreatin fosfokinaz

Tripsin ve diğer proteazlar, klinik laboratuvarlarda sıklıkla ölçülmediğinden, makroenzimin bu tipi sıklıkla ortaya çıkarılamamakta ve klinik önemi bilinmemektedir.

Makro-CK'nın, immünglobülin bağlı formunun yanı sıra, immünglobüline bağlı olmayan tip-2 formu da bulunmaktadır ve yatan hastaların %3.7'sinde gösterilmiştir. Makro-CK tip-2, mitokondriyal-CK'nın bir polimeri olup, moleküler ağırlığı 300 000 Da'dan daha büyüktür. Mitokondriyal-CK, yapısal olarak M ve B alt gruplarıyla ilişkili değildir ve aynı gen tarafından yapılır. İn-vitro, mitokondriyal-CK, substratının ve magnezyum yokluğunda polimerize olur. Ancak benzer durumun in-vivo ortamda da olup olmadığı ve fonksiyonel önemi bilinmemektedir. Karaciğer mitokondriyal-CK'dan zengindir ve karaciğer hastalığı bulunanların plazmalarında muhtemelen artmış hepatosit turnover ve ölümüne bağlı makro-CK tip-2 enzimi de artmaktadır. Makro-mitokondriyal-CK tip-2, metastatik karsinom gibi ciddi sistemik hastalığı bulunanlarda da yüksektir. Bu makroenzim de dolaşımdan temizlenemez ve birikir, ancak bu hastalarda total CK aktivitesinin, normal limitlerin hafif üzerinde olduğu gözlenmiştir.

Diğer örnekler, tip-2 makro-ALP ve makro-GGT'dir. Bu makroenzimler sağlıklı kişilerde de bulunur, fakat karaciğer hastalığının varlığında miktarları artmaktadır. Polyacrylamid jel elektroforezinde GGT, yüksek, orta ve düşük molekül ağırlıklı olmak üzere 3 banda ayrılır; makro-GGT tip-2, orta ve yüksek moleküler ağırlıklı bantta yer almaktadır. ALP ise yüksek ve düşük molekül ağırlıklı bantlara ayrılır; makro-ALP tip-2, yüksek molekül ağırlıklı bantta yer almaktadır.

Tip-2 makroenzimlerin oluşumlarına yönelik iki teori vardır. Birincisi safra akımı engellendiğinde, safranin deterjan etkisi ile, plazma membranına bağlı enzimler çözünür. Bu enzimlerin hidrofobik domaininin veya diğer bir tanımla kovalent bağlı fosfolipidlerinin çözüldükleri ve dolaşımdaki lipoprotein taşıyan proteinlere bağlandıklarına inanılmaktadır. Diğer teori, hepatik tıkanıklık sırasında, hepato-biliyer sistemi döşeyen hücrelerin plazma membranlarının parçalanması ve plazma membran elemanlarının dolaşıma salınmasıdır.

İMMÜNGLOBÜLINE BAĞLI OLMAYAN MAKROENZİMLERİN KLİNİK ÖNEMİ

Makro-CK tip-2 hariç, makro-CK tip-1, miyokard infarktüsündeki enzim yüksekliğine benzer yalnızca

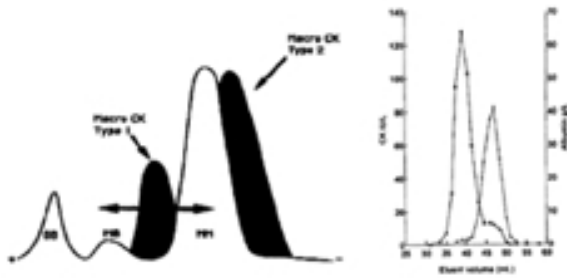
CK enzim yüksekliğine neden olabilir. Makro-CK tip-2, şiddetli karaciğer hastalığı ve yaygın maligniteler gibi bazı hastalıklarla güçlü ilişkilidir, hatta tümör markeri olarak kullanılması önerilmiştir. Mercer ve Talamo, gastrointestinal sistemin adeno kanseri bulunan 33 hastada, makro-CK tip-2 ölçümününün %56 sensitiviteyle karsino-embriyjenik antijenden biraz daha duyarlı olduğunu bulmuşlardır. Rogalsky ve arkadaşları ise makro-CK tip-2'nin, tümörlü kolon dokusunda normal dokudan daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Kanserli hastalarda artan hücresel çoğalma ve ölüm nedeniyle makro-CK tip-2 aktivitesinin de artması beklenen bir olaydır. Ancak, konsantrasyonu tümör yükü ile orantılı değildir. Makro-CK tip-2'nin tümör markeri olarak kullanılmadan önce daha ileri klinik araştırmalar gereklidir, fakat pozitif bulunan hastalarda, karaciğer hastalığı veya kanser olasılığı yönünden doktoru dikkatli davranmalıdır.

Hepato-biliyer makroenzimlerin intrahepatik veya ekstrahepatik tıkanıklığın ayırt edilmesinde kullanılacak bir marker olabileceği görüşü ileri sürülmüş, ancak diğer testlere yeterince üstünlüğü gösterilememiştir.

MAKROENZİMLERİN LABORATUAR ANALİZİ

Başlangıç Testleri: Makroenzim varlığından şüphe edilen vakanın değerlendirilirken, öncelikle klinik değerlendirilmesi ve rutin laboratuvar incelemesinin yapılması esastır. Mevcut enzim yüksekliği herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilemiyorsa makroenzim varlığı akla getirilmelidir. Örneğin serum amilaz enzimi yüksek bir hastada pankreatit kliniği yoksa, lipaz enzimi normalse ve idrar amilazı düşüğe, makro-amilazemi düşünülebilir. Tip-1 ve tip-2 makro-CK içeren serumda izoenzimlerine bakıldığında, %20'den fazla MB aktivitesi saptanır. Oysa miyokard infarktüsünde MB aktivitesi, %20'den daha azdır ve bu denli yüksek oranlar makro-CK'yi düşündürmektedir. Makro-CK'nın dolaşımdaki yarılanma ömrü uzun olduğundan, yarılanma ömrü 12 saat olan MB izoenzimine göre oranı da daha fazla olacaktır. Yine makro-amilazemiden şüphe edildiğinde, serum ve 24 saatlik idrarda amilaz ve kreatinin düzeyleri ölçülerek; amilaz/kreatinin klirensi oranına bakılabilir, Makro-amilazın renal klirensi olmadığından, idrardaki amilaz seviyesi de düşük olacaktır ve bu oran genellikle %1 altındadır. Buna karşılık, normal renal fonksiyonlu ve diğer nedenlere bağlı hiperamilazemili hastalarda ise normal limitler içinde (%0.8-4.5) veya artmış olacaktır.

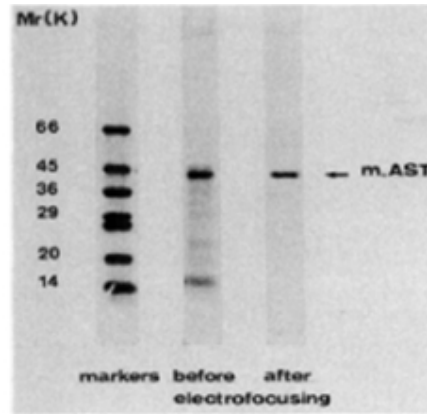
Protein elektroforezi bir çok laboratuarda makroenzimler için de uygulanabilecek metotlardan biridir. Makroenzimler, enzim bantlarının yoğunluğunda değişme veya yeni bant oluşumu ile dikkati çekerler. Makro-CK, CK'nın elektroforezinde yeni enzim bandı oluşturacağından kolaylıkla tanınabilir. Makro-CK tip-1, tipik olarak MM ve MB izoenzimlerinin arasına geçerken, makro-CK tip-2, katodik olarak MM izoenzimine doğru geçer (Şekil 1). Protein elektroforezi, immünglobülin bağlı olmayan hepato-biliyer sistemin makroenzimlerini gösteren en önemli testtir. Poli-etilen glikol (PEG) ile presipitasyon (çökeltme) testi, immünglobülin bağlı makroenzimler için diğer basit tarama testlerindedir.



Şekil 1. (Solda) CK elektroforezi. Makro-CK tip-1, MM ve MB bantları arasında yer aldığı görülmektedir. Makro-CK tip-2, MM izoenziminin katodik karşılığında yer almaktadır. (Sağda) MM Jel-filtrasyon kromatografisi; Normal CK albümin eğrisi altında yer alırken, makro-CK'nın albüminden önceki eğriyi oluşturduğu izlenmektedir

İleri Testler: İmmün-enzim kompleksinin artmış moleküler kitlesi, jel-filtrasyon yöntemiyle saptanabilir. İlk enzim piki olan makro-amilaz, daha büyük kitleye sahip olduğundan, serbest amilazdan daha çabuk jel-filtrasyon kolonundan ayrılır. Enzim-immün komplekslerinin çoğunun moleküler kitlesi, enzim ve immünglobülin arasındaki 2/1 oranına bağlıdır. Jel filtrasyonda immün-olmayan enzim

kompleksleri, immün-enzim komplekslerine göre daha büyük moleküler kitleye sahiptirler ve jel-filtrasyon kolonlarının çoğunun boş volümünde görülürler. İnce tabaka jel-filtrasyonda ise daha biçimsiz kolonlar olarak izlenirler. İmmün-enzim ilişkisi farklı immünolojik assaylerle de gösterilebilir; nti-human antikorları veya lipoprotein taşıyıcıların apoprotein bölümüyle reaksiyon veren Protein A-Sepharose antikorları, hepato-biliyer sistem makroenzimlerinin immün presipitasyonunda kullanılmaktadır (Şekil 2). Sonuç olarak, immünglobülinle enzim arasındaki fiziksel ilişkinin gösterilmesinde, immüno-elektroforez, counter-immünoelektroforez ve immünofiksasyon testleri de ileri tetkik aşamasında kullanılan, önerilen testlerdir.



Şekil 2. Sepharose 4B aspartat kromatografik elektroforez ile makro-AST'nin gösterilmesi

Özet olarak, bir hastada makroenzim varlığı gösterildiğinde, bu sonuç mutlaka hastanın tıbbi kayıtlarına işlenmeli ve hastaya da bu konuda bilgi verilmelidir. Bu durum, kişinin herhangi bir şikayeti her sağlık kuruluşuna başvurusunda gereksiz enzim takipleri, ileri tetkik ve invaziv işlemlerin yapılmasının önlenmesi ve maliyet açısından gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Briani C, Zaninotto M, Forni M, Burra P. Macroenzymes: too often overlooked. J Hepatol. 2003; 38: 119.
2. Catassi C, Guerrieri A, Natalini G ve ark. Macroamylasemia and selective IgA deficiency. Arvc Dis Child. 1986; 61: 704-6.
3. Cutolo M, Sulli A, Barone A, ve ark. Macroamylasemia: a possible cause of unexplained hyperamylasemia in rheumatoid arthritis. Br J Rheumatol. 1995; 34: 290-2.
4. Davidson DF, Watson DJM. Macroenzyme detection by polyethylene glycol precipitation. Ann Clin Biochem. 2003; 40: 514-20.

-
5. Deprettere A.J.R, Eykens A, Van Hoof V. Disappearance of makroamylasaemia in a celiac patient after treatment with gluten-free diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2001; 33: 346-8.
 6. Galasso PJ, Litin SC, O'Brien. The macroenzymes: A clinical Review. *Mayo Clin Proc.* 1993; 68: 349-54.
 7. Gallarraga B, Sinclair D, Fahie-Wilson MN, ve ark. A rare but important cause for a raised creatine kinase concentration: two case reports and a literature review. *Rheumatol.* 2003; 42: 186-88.
 8. Greenberg RE, Bank S, Singer C. Macroamylasaemia in association with the acquired immunodeficiency syndrome. *Postgrad Med J.* 1987; 63: 677-9.
 9. Hasselbacher P, Myers AR, Passero FC. Serum amylase and macroamylase in patients with systemic lupus erthematosus. *Br J Rheumatol.* 1988; 27: 198-201.
 10. Hortin GL, Summerfield AL, Wilhite TR, ve ark. Detection of autoantibodies to amylase by ELISA: Comparison of detection of amylase and free autoantibody. *Clin Chem.* 1994; 40: 2254-9.
 11. Jacobs E, Anzalone T, Sarkozi L. Immunoprecipitation method for CK-MB analysis re-evaluated: influence of CK-BB and macro CK on blank activities. *Clin Chem.* 1988; 34: 585-8.
 12. Koda YKL, Vidolin E. Familial hyperamylasemia. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo.* 2002; 57: 77-82.
 13. Leroux-Roels GG, Wieme RJ, de Broe ME. Occurrence of enzyme-immunoglobulin complexes in chronic inflammatory bowel diseases. *J Lab Clin Med.* 1981; 97: 316-21.
 14. Mercer DW, Talamo TS. Multiple markers of malignancy in sera of patients with colorectal carcinoma: preliminary clinical studies. *Clin Chem.* 1985; 31: 1824-8.
 15. Mifflin TE, Benjamin DC, Bruns DE. Artificial macroamylases and monoclonality of macroenzymes. *Clin Chem.* 1985; 31: 1416-7.
 16. Mifflin TE, Bruns DE. Univ of Virginia Case Conference: macroamylase, macro creatinine kinase, and other macroenzymes. *Clin Chem.* 1985; 31: 1744-8.
 17. Perry C, Peretz H, Ben-Tal O, Eldor A. Highly elevated lactate dehydrogenase level in healthy individual: A case of macro-LDH. *Am J Hematol.* 1997; 55: 39-04
 18. Rabsztyń A, Green PHR, Berti I, ve ark. Macroamylasemia in patients with Celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2001; 96: 1096-1100.
 19. Remaley AT, Wilding P. Macroenzymes: Biochemical characterization, clinical significance, and laboratory detection. *Clin Chem.* 1989; 35: 2261-70.
 20. Rogalsky VY, Koven IH, Miller DR, Pollard A. Macro creatine kinase type 2 in human colonic tissue. *Clin Biochem.* 1985; 18: 338-41.
 21. Stasia, M-J, Suria A, Renversez J-C, ve ark. Aspartate aminotransferase macroenzyme complex in serum identified and characterized. *Clin Chem.* 1994; 40: 1340-3.
 22. Traynor OJ, Wood CB, Echetebe ZO, ve ark. Measurement of high molecular weight forms of enzymes in serum in the detection of hepatic metastases of colorectal cancer. *Cancer.* 1983; 53: 483-7.
 23. Turecky L. Macroenzymes and their clinical significance. *Bratisl Lek Listy.* 2004; 105: 260-3.
 24. Van Deun A, Cobbaert C, Van Orshoven A, ve ark. Comparison of some recent methods for the differentiation of elevated serum amylase and the detection of macroamylasemia. *Ann Clin Biochem.* 1989; 26: 422-6.
 25. Wilding P, Cooke WT, Nicholson GI. Globulin-bound amylase: a cause of persistently elevated levels in serum. *Ann Intern Med.* 1964; 60: 1053-9.