

I marcatori di cardiopatia ischemica

Prof. Catalano – 6/10/2023- Autori: Rodinò, Fazari, Maio - Revisionatori: Fazari, Maio, Rodinò

MARCATORI DI LESIONE E FUNZIONE MIOCARDICA

Per la prognosi e la diagnosi del paziente si utilizza la medicina di laboratorio unitamente alle indagini strumentali.

Attraverso lo studio dei marcatori si valuta la presenza di eventuali lesioni e la funzione miocardica. I marcatori che vengono utilizzati per la diagnosi della cardiomiopatia ischemica prendono il nome di **‘marcatori di lesione miocardica’**.

Già dagli anni ‘50 era iniziata la ricerca di un marcatore ideale utile per la diagnosi di infarto e cardiopatia ischemica.

Il marcatore ideale di danno al miocardio dovrebbe:

- essere contenuto unicamente nella cellula miocardica, in tale condizione si otterrebbe una specificità diagnostica assoluta per il danno cardiaco;
- essere presente in elevata concentrazione nel muscolo cardiaco, ad ottenere un'elevata sensibilità;
- essere rilasciato dal muscolo cardiaco danneggiato rapidamente (diagnosi precoce), in maniera completa e in quantità proporzionale al danno miocardico (valutazione dell'estensione del danno);
- essere rilevabile in circolo per molte ore così da permetterne il dosaggio in una finestra diagnostica utile a porre diagnosi anche tardivamente.

Queste proprietà determinano le caratteristiche diagnostiche di un marcatore, ovvero la sensibilità e la specificità cliniche e, di conseguenza, la sua efficacia.

STORIA DEI MARCATORI CARDIACI

- **1954 GOT (o AST)**, si è subito notata la loro forte aspecificità dato che aumentano anche a causa di molte altre condizioni
- **1955 LDH**, fortemente aspecifiche
- **1960 CPK** (creatin-fosfochinasi), ancora oggi utilizzata anche se ormai sostituita dalla troponina. Ha rappresentato una svolta nella ricerca dei marcatori di lesione miocardica.
- **1972 è stata effettuata l'elettroforesi della CPK**
- **1975 si è scoperta l'isoforma CK – MB** mediante immunoinibizione. E' specifica per il cuore, infatti è ancora utilizzata
- **1975 Mioglobina**
- **1985 CK - MB Massa (saggio immunologico)**
- **1989 Troponina T**
- **1992 Troponina I**
- **2004 Peptidi Natriuretici Cardiaci**, hanno attività ormonale, in particolare dosare il BMPè utilizzato come marcatore di funzione miocardica.

Le troponine T e I rappresentano praticamente i marcatori ideali, sebbene possano essere utilizzati anche altri marcatori.

Quando c'è il sospetto di una lesione miocardica si fa subito l'esame della troponina che, attraverso dosaggi ultrasensibili, dà risultati affidabili anche in situazioni di emergenza e urgenza. Ovviamente anche questi marcatori hanno dei limiti.

La troponina serve per evidenziare l'attacco ischemico e la necrosi ed è, quindi, il marcatore più utilizzato in situazioni di urgenza.

I peptidi, invece, vengono utilizzati a scopo prognostico anche, ad esempio, nel caso di un paziente già infartuato, per valutare la funzionalità cardiaca.

I marcatori di lesione miocardica vengono divisi in Indicatori Precoci e Indicatori Tardivi.

- **Indicatori Precoci:** vengono dismessi subito dopo l'attacco ischemico, cioè la lesione o necrosi del miocardio. Risultano fondamentali per una diagnosi precoce della condizione.
- **Indicatori Tardivi:** più aspecifici e quindi raramente utilizzati, vengono dismessi dopo qualche ora.

INDICATORI PRECOCI

Creatinchinasi, utilizzata come marcatore per eccellenza prima della scoperta della troponina;

Mioglobina rappresenta il marcatore più precoce in assoluto, utilizzato quando si ha necessità di dosare un marcatore molto precoce;

Troponina.

LA CREATININA CHINASI MB (CK-MB)

La creatinchinasi (CK) è un enzima che svolge un ruolo chiave nel metabolismo energetico della cellula per la sua capacità di formare ATP a partire da creatinfosfato e ADP e catalizzare anche la reazione inversa, con conseguente rapido immagazzinamento o rilascio di energia.

$\text{Creatinfosfato} + \text{ADP} \leftrightarrow \text{Creatina} + \text{ATP}$

Ha una struttura dimerica derivante dalla combinazione di due monomeri, definiti M e B, ciascuno codificato da un gene specifico. Mentre all'inizio veniva dosata la creatinchinasi totale, poi sono state scoperte le varie isoforme. La possibilità di individuare l'isoforma specifica per il tessuto cardiaco ha garantito molta più specificità e sensibilità.

Le diverse combinazioni di questi due monomeri danno origine a tre isoenzimi:

CK-MM: si trova sia nel muscolo scheletrico che cuore (97% e 78% dell'attività totale CK);

CK-MB: cuore e muscolo scheletrico (22% e 3% dell'attività totale CK);

CK-BB: cervello, tratto gastrointestinale, vescica (100%, 96% e 92%).

Esiste anche un **Isoenzima mitocondriale** codificato da un gene specifico e costituito da due subunità identiche a distribuzione tissutale ubiquitaria.

In circolo, in soggetti sani, si trova la CK-MM per circa il 95% (quindi costituisce la maggior parte della creatinchinasi presente) e la CK-MB inferiore al 5%.

Il rapporto CK-MB ($\mu\text{g/L}$) / CK totale (UI/L) nei soggetti normali è inferiore 2.5.

CREATININA CHINASI MB (CK-MB)

Essendo il marcatore più presente, è anche quello che maggiormente viene liberato in circolo in caso di lesione miocardica.

- L'aumento della percentuale di questa isoforma incrementa entro 3-4 h dall'evento lesivo;
- Il picco (cioè la sua maggiore liberazione) si verifica entro 10-12 h;
- Ha una durata in circolo di 48-72 h.

Nei soggetti in cui si sospetta una lesione ischemica del miocardio la CK-MB deve essere superiore a 6 µg/L e il rapporto, visto in precedenza, CK-MB (µg/L) / CK totale (UI/L) > 2.5

- Il dosaggio avviene attraverso Metodi Immunologici, utilizzando anticorpi specifici contro l'isoforma MB. Il risultato si ottiene rapidamente, proprio perché spesso si lavora in situazioni di emergenza. Generalmente si ottengono i valori della concentrazione delle creatin chinasi nell'arco di 8-10 minuti.

QUALI INFORMAZIONI CI DA IL DOSAGGIO DELLA CREATININA CHINASI MB (CK-MB):

È fondamentale per avere una diagnosi precoce quando vi è una lesione ischemica a livello del miocardio.

La sua concentrazione in circolo è proporzionale alle dimensioni dell'infarto, quindi ci dà informazioni in merito alla grandezza della zona infartuale. È utile per valutare la ripercussione e la rilevazione reinfarto.

Ha un alto valore predittivo negativo, quindi se si hanno valori bassi non variabili si esclude l'ipotesi di IMA.

Presenta un basso costo ed è rapidamente dosabile (8-30 minuti).

Il grosso limite è che ha una bassa specificità, infatti, sebbene l'isoforma MB è maggiormente espressa nel tessuto cardiaco, comunque bisogna considerare anche la sua presenza nei muscoli.

Il fatto che non si innalzi esclude l'IMA, tuttavia, il fatto che si innalzi non dice con certezza se sta effettivamente avvenendo un infarto ischemico.

NB: anche i limiti di riferimento, visti in precedenza, sono poco definiti.

CAUSE NON CARDIACHE DI INCREMENTO DELLA CK-MB

- Distrofia muscolare progressiva;
- Polimiosite;
- Trauma muscolare, soprattutto se associato ad ostruzione arteriosa;
- Spasmi muscolari o convulsioni infantili;
- Sforzi fisici intensi o prolungati;
- Stato di male epilettico;
- Periodo postoperatorio.
- Infarto cerebrale massivo;
- Parto e gravidanza a termine;
- Ipotiroidismo, infatti una carenza di ormoni tiroidei determina un'alterazione a livello dei muscoli;
- Iniezioni intramuscolari (causano un insulto a livello muscolare)

Anche se è stato sostituito dalla troponina, in alcuni casi di lesione miocardica continua ad avere la sua utilità.

LA MIOGLOBINA

È una proteina globulare a basso peso molecolare, costituita da una catena polipeptidica di 153 aminoacidi e da un gruppo prostetico, l'eme identico a quello dell'emoglobina.

Svolge un importante ruolo nel trasporto dell'ossigeno dalle membrane cellulari ai mitocondri e funge da riserva di ossigeno. È presente nel muscolo scheletrico e cardiaco, quindi anche qui si hanno problemi di specificità.

- Insorgenza entro 1-2 h, questo la rende il marcatore più precoce per eccellenza. Può essere utile associarla alla troponina proprio per questa sua caratteristica;
- Picco più ridotto rispetto alla CK, di 6-12 h;
- Durata 24-36 h.
- Si dosa in tutti i laboratori di immunochimica con metodi immunologici.
- I livelli sierici di riferimento: 0-85 ng/ml

LE CARATTERISTICHE E I LIMITI DELLA MIOGLOBINA

- Diagnosi precoce
- Valore predittivo negativo, quindi valori bassi non variabili escludono l'IMA
- Basso costo e rapidamente dosabile
- Bassa specificità perché è presente nei muscoli
- Quindi aumenta in corso di patologie muscolari o esercizio fisico prolungato

Per aumentare la specificità del dosaggio della mioglobina, viene dosata contemporaneamente l'Anidrasi Carbonica III, cioè un enzima prodotto dal tessuto muscolare.

Valutare il rapporto Mioglobina/ Anidrasi Carbonica III è fondamentale per capire se l'aumento della mioglobina sia dovuto o meno ad una patologia a livello cardiaco.

LE TROPONINE

Vengono dosate quando si ha un forte dolore al petto sospetto.

Sono proteine strutturali del miocardio, localizzate all'interno dei filamenti sottili dei sarcomeri.

Sono legate al complesso F-actina/ Tropomiosina nei filamenti sottili a riposo.

È formata da tre diverse subunità:

Troponina C → è una subunità legante il calcio, la stessa isoforma è presente sia nel muscolo scheletrico che nel muscolo cardiaco (infatti non viene mai dosata perché è aspecifica).

Troponina T → è una subunità di legame alla Tropomiosina. Presenta a livello del residuo N-terminale 11 aa nel muscolo cardiaco, che le permettono di differire dalle troponine dei muscoli scheletrici.

Troponina I → inibisce l'attività ATPasica della miosina e ne blocca il movimento in assenza di calcio. Ha un residuo N-terminale di 32 aa nel muscolo cardiaco, che la rende specifica per il cuore (vale quindi la stessa cosa della troponina T).

Le troponine (T e I) richiedono necrosi per essere rilasciate dal sarcomero;

- Insorgenza entro 3-8 h;
- Picco 20-24 h, tardivo rispetto alla creatinichinasi;
- Hanno una finestra diagnostica molto alta, quindi la loro durata >240 h (TnT) e >144 h (TnI)

IL DOSAGGIO DELLE TROPONINE AVVIENE ATTRAVERSO METODI IMMUNOLOGICI

Si può effettuare il dosaggio della TnT (forma libera ed immodificata) e della forma TnI, in questo caso, vengono identificate le porzioni N- e C- terminali e centrale (30-110 aa).

Si tratta di metodi ad elevata sensibilità analitica.

Il risultato del dosaggio necessita di essere confermato da almeno due misurazioni effettuate in successione, in genere in un intervallo di 3 ore o in alcuni casi anche di meno.

Quando la richiesta dell'esame della troponina arriva in urgenza, l'esito deve essere dato entro 30 minuti. Se i valori sono normali, ma c'è il sospetto di una necrosi del miocardio, la troponina deve essere ripetuta nell'arco di tre ore (in genere dopo 1-2 ore).

La conferma di negatività o positività deve essere quindi effettuata su due test successivi, a meno che non ci sia l'urgenza di intervenire immediatamente dopo il primo test.

In particolar modo, se l'esame risulta negativo ma c'è un forte sospetto di infarto, è necessario effettuare il secondo prelievo in modo tale da permettere ai valori di aumentare, in quanto variano nel tempo.

CARATTERISTICHE DELLE TROPONINE

Elevata sensibilità: i test permettono di rilevare anche piccola variazione della concentrazione della troponina;

Elevata specificità: nettamente superiore rispetto alla specificità della creatinchinasi e della mioglobina;

Stima dell'area di necrosi: rilasciata in quantità proporzionali al danno;

Valutare l'infarto in tempi non immediatamente successivi all'evento;

Basso costo e rapidamente dosabile.

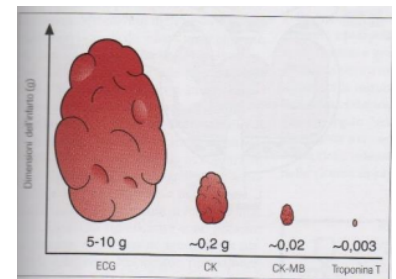
In genere si dosano due isoforme:

Troponina I (più utilizzata): specificità più elevata, finestra diagnostica 4h-6gg, il dosaggio avviene in 10 minuti;

Troponina T: specificità meno elevata, finestra diagnostica 3h-10gg, il dosaggio avviene in 2h.

TnT e TnI rappresentano i marcatori più sensibili e specifici di infarto del miocardio. Il loro dosaggio è oggi più rilevante di quello di CK e Mioglobina.

Consentono di individuare micro-infarti o necrosi focali, anche quando l'ECG risulta senza alterazioni (questo è fondamentale nella diagnostica di laboratorio!).



LIMITI DELLE TROPONINE

Aumentano in altre patologie cardiache, ad esempio:

- Traumi cardiaci
- Cardiotossicità da chemioterapici: quando si effettua la chemioterapia (con alcuni tipi particolari di chemioterapici), negli esami di routine richiesti per valutare la cardiotossicità c'è anche il dosaggio della troponina, che in questo caso ovviamente NON è indice di infarto;
- Scompenso cardiaco: i valori sono ridotti rispetto all'infarto;
- Chetoacidosi diabetica: in alcuni casi può causare danni a livello cardiaco, ma sono condizioni davvero rare;
- Trapianto cardiaco (condizione rara);
- Ipertensione (condizione rara);
- Miocardite/pericardite;
- Tachiaritmie;
- Chirurgia cardiaca;
- Sepsis;

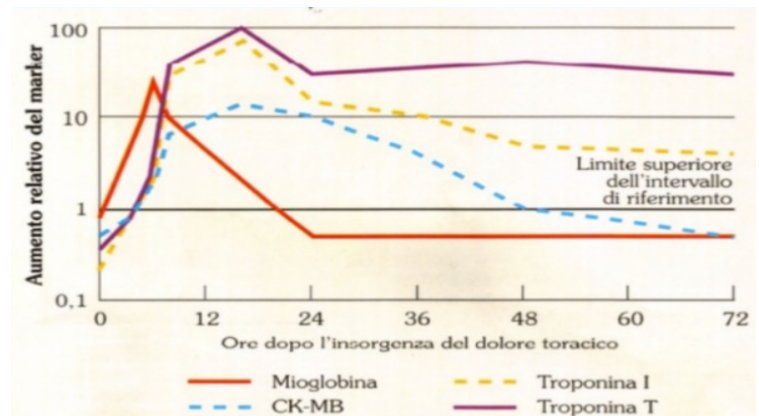
- Ustioni (>30% della superficie corporea): in questi casi si può avere incremento di forme specifiche della troponina

Queste condizioni sono abbastanza rare, quella che bisogna considerare maggiormente è la cardiotoxicità da chemioterapici. Negli esami di monitoraggio, si richiede l'emocromo, la valutazione epatica e in alcuni casi (con particolari chemioterapici) si richiede anche la troponina per valutare la cardiotoxicità.

IL GRAFICO DEGLI INDICATORI PRECOCI

Nel grafico è possibile osservare come il marcatore più precoce sia la Mioglobina, che raggiunge velocemente il picco per poi scendere altrettanto velocemente.

Sia la creatinichinasi che le isoforme della troponina si innalzano e presentano un picco nello stesso periodo. Altra caratteristica fondamentale della Troponina T è che permane per molto più tempo della troponina I e della CK (quest'ultima permane meno della Troponina I).



INDICATORI TARDIVI

Gli indicatori tardivi non sono molto utilizzati poiché sono fortemente aspecifici.

Si tratta di:

LDH;

Miosina;

AST/GOT.

LATTATO DEIDROGENASI (LDH)

È un enzima che catalizza la conversione del lattato in piruvato;

Presente in 5 forme isoenzimatiche in funzione delle combinazioni delle subunità H ed M.

È presente in numerosi altri tessuti (tabella) e possono essere utilizzati, ad esempio, come marcatori di funzionalità epatica.

Per quanto riguarda i marcatori, in generale, è fondamentale che quando si richiede un dosaggio, il medico collochi i risultati nel quadro clinico del paziente e li associ agli altri esami.

È importante considerare che i risultati non vanno mai interpretati singolarmente, ma valutati nel contesto degli esami globali del paziente.

Isoenzima	LD1	LD2	LD3	LD4	LD5
Monomeri	HHHH	HHHM	HHMM	HMMM	MMMM
Siero	25	35	20	15	5
RBC	40	35	15	10	0
Miocardio	45	40	10	5	0
Muscolo	0	0	10	30	60
Fegato	0	5	10	15	70
Polmone	10	15	40	30	5
Rene	35	30	25	20	0

LD1 e LD2 sono specifiche del miocardio, aumentano in caso di IMA, ma non sono specifiche nell'indicare un infarto perché aumentano in numerose altre condizioni.

- Insorgenza tardiva, entro 12-14 h;
- Picco 36-48 h;
- Durata 7 g.

MIOSINA

È una proteina strutturale del tessuto muscolare, responsabile dell'interazione reversibile con l'actina durante la contrazione muscolare.

È composta da:

- **MHC**: catene pesanti, isoforme α e β nel miocardio (β presente nel muscolo scheletrico), insorgenza: dopo 48h, picco: 5-6 g, durata maggiore 10g;
- **MCL1 e MCL2**: catene leggere legate alla regione N-terminale delle MHC, responsabili dell'interazione reversibile con l'actina. Insorgenza: entro 6 h, durata circa 14g. Sono fortemente aspecifici, quindi scarsamente utilizzati.

ASPARTATO AMINOTRANSFERASI (AST)/ TRANSAMINASI GLUTAMMICO OSSALACETICA (GOT)

È stato il primo marcatore utilizzato per identificare la necrosi miocardica.

Enzima presente nelle cellule del miocardio, fegato e muscolo scheletrico.

- Insorgenza entro 8-12 h;
- Picco: 24-48h;
- Durata: 3-4 g.

Non fornisce informazioni diagnostiche aggiuntive a quelle ottenute con la creatinchinasi o con l'LDH.

TEST MULTIPARAMETRICI

I *test multiparametrici*, sono test che permettono contemporaneamente di valutare marcatori correlati ad una eventuale lesione miocardica.

Permettono il simultaneo svolgimento di più indagini con la stessa metodologia. Hanno un'elevata sensibilità. Essi non sono ancora entrati nella routine di laboratorio, devono ancora essere testati e valutata la vera attendibilità ed efficacia; hanno inoltre un costo molto elevato.

GLI ANALITI CHE POSSONO ESSERE INSERITI NEL DOSAGGIO MULTIPARAMETRICO

- **H-FABP**: proteina citoplasmatica che ossida gli acidi grassi. Insorgenza entro 2-4 h con un picco 5-6 h; durata 24 h;
- **Mioglobina**
- **GP-BB** (glicogeno-fosforilasi BB): proteina enzimatica glicolitica che fornisce glucosio al muscolo. Insorgenza entro 3 h con un picco 6 h; durata 24h;
- **cTnI**
- **CK-MB**
- **CA III (Anidrasi Carbonica III)**

I marcatori sono fondamentali per una diagnosi precoce di lesione miocardica ischemica, ma vengono valutate anche per altre applicazioni.

Possono essere richiesti per altre valutazioni, come:

- **Stratificazione del rischio miocardico** □ utile per la prognosi
- **Valutazione della riperfusione** □ implicato nel danno;
- **Diagnosi re-infarto** □ che può instaurarsi in un paziente cardiopatico.

DIFFERENZA TRA MARCATORI DI LESIONE E FUNZIONE

I **marcatori di lesione** sono indice di una necrosi al tessuto. È, infatti, la necrosi stessa a determinare la fuoriuscita di queste molecole. Si tratta dei marcatori che vengono dosati in caso di sospetto di ischemia o infarto.

Sono fondamentali nella fase diagnostica e permettono di stabilire una diagnosi precoce.

I **marcatori di funzione** permettono di stabilire, insieme ad altri esami strumentali (Come l'ecocardiogramma o la Risonanza Magnetica), la funzione vitale del cuore, soprattutto in un paziente infartuato in cui è importante andare a valutare l'andamento.

I marcatori di funzione sono i ***Peptidi Natriuretici***.

Sono macromolecole che hanno una funzione ormonale, cioè endocrina; peptidi costituiti da molecole altamente omologhe:

- **ANP**: peptide prodotto dalle cellule atriali;
- **BNP**: peptide prodotto dalle cellule ventricolari;
- **CNP**: peptide prodotto dalle cellule endoteliali e da cellule del SNC;
- **DNP**: peptide con ruolo fisiopatologico e origini incerte;
- **Urodilatina**: prodotta esclusivamente dal rene, non si trova in circolo ma solo nelle urine.

Questi peptidi hanno una struttura peculiare, cioè forma ad anello che si lega a recettori specifici, svolgendo le funzioni biologiche.

In particolare, quelli identificati come marcatori di funzione miocardica sono:

- **ANP**: è prodotto dai miocardiociti atriali. La sua sintesi avviene in risposta alla distensione della parete atriale conseguente all'aumento del volume intravascolare, cioè se si ha una distensione atriale si ha un'aumentata sintesi di questo peptide;
- **BNP**: un neuroormone prodotto prevalentemente dal ventricolo cardiaco. La sua sintesi è assente in condizioni basali ma è regolata a livello trascrizionale da:
 - o Stimoli Parietali: distensione della parete ventricolare, fibrosi ed ipertrofia parietale e ischemia;
 - o Stimoli Endocrini: noradrenalina, angiotensina II, endotelina, glicocorticoidi, estrogeni, ormoni tiroidei, fattori di crescita e citochine.

Questi due peptidi natriuretici cardiaci sono prodotti come pre – proormoni (pre-proANP e pre-proBNP) che contengono un peptide segnale a livello della terminazione NH₂-terminale, che con il conseguente distacco del peptide segnale si origina il proormone.

Di seguito, il processo di formazione del BNP:

Dal pre-proBNP, attraverso il distacco proteolitico del peptide segnale, origina il pro-ormone (pro-BNP); Il successivo clivaggio enzimatico del legame tra gli amminoacidi in posizione 76-77 dà luogo a due frammenti, secreti in quantità equimolare nel circolo sanguigno:

- Il frammento amino-terminale del pro-BNP dall'amminoacido 1 al 76, sprovvisto di attività ormonale, chiamato NT-pro-BNP;
- Il frammento C-terminale del pro-BNP dall'amminoacido 77 al 108, biologicamente attivo, noto con il nome di BNP.

I sopracitati peptidi sono dosabili nel plasma con metodi immunologici, con risultati abbastanza attendibili.

Il marcatore più utilizzato è l'NT-pro-BNP.

L' NT – proBNP è un biomarcatore ideale perché ha livelli circolanti più elevati e più stabili nel tempo perché ha una minore degradazione in vitro ed emivita di 90 minuti.

Essendo marcatori di funzione, un loro aumento indica una disfunzione, cioè una non completa funzionalità del cuore.

Infatti, essi vengono valutati per verificare se per esempio l'infarto ha implicato un danneggiamento morfologico e funzionale cardiaco.

Per valutare realmente la funzione e capire come risponde il cuore è utile dosare i marcatori di funzione miocardica.

Le raccomandazioni dell'impiego clinico di BNP:

- Diagnosi insufficienza cardiaca cronica (rule-out), quindi se si ha sospetto di un'insufficienza cardiaca è importante valutarlo per cambiare il trattamento terapeutico;
- Valutazione disfunzione ventricolare, utile per capire quanto è stato danneggiato il ventricolo, soprattutto usato post infarto massivo; Gli esami strumentali richiedono tempi più lunghi ed un'interpretazione maggiore, mentre il dosaggio del BNP è semplice e veloce.
- Valutazione iniziale in SCA (correlabile con estensione del danno): Dopo un infarto massivo, può essere utilizzato per valutare la risposta del paziente.
- Prognosi insufficienza cardiaca. Ha un forte valore prognostico, se il valore è alto la prognosi è negativa.
- E' di aiuto al cardiologo nella guida alla terapia.