

## **Marcatore del danno miocardico**

La mortalità per malattie cardiovascolari è in decisa diminuzione nella maggior parte dei Paesi industrializzati, pur rappresentando ancora la maggiore causa singola di morte. Nel 1997, su un totale di 52,2 milioni di decessi, oltre 15 milioni sono stati causati da disturbi circolatori di cui 7,2 milioni dovuti ad infarto, 4,6 milioni a lesioni cerebrovascolari e 3 milioni ad altri disturbi cardiaci. La diminuzione è particolarmente evidente in alcuni Paesi del Nord Europa e negli USA, in cui più attiva è stata la campagna di sensibilizzazione nei confronti dei fattori promotori la malattia aterosclerotica e riguarda sia la mortalità per la cardiopatia ischemica, sia quella per gli incidenti cerebrovascolari. Anche l'Italia si sta allineando con gli altri Paesi occidentali e la mortalità per malattie cardiovascolari ha avuto nell'ultimo decennio una diminuzione che, pur con forti differenze regionali, si è attestata intorno ad un valore medio dell'11% (Fig 1).

Da un'analisi eseguita negli USA alcuni anni or sono, è stato stimato che oltre il 60% della riduzione della mortalità per cardiopatia ischemica è attribuibile direttamente al controllo dei principali fattori di rischio coronarico e cioè il 30% è dovuto alla diminuzione della colesterolemia media della popolazione, il 24% alla diminuzione del tabagismo e il 9% al trattamento dell'ipertensione arteriosa. Solo il 32% della riduzione della mortalità è ascrivibile al trattamento medico e chirurgico della malattia coronarica. Le aspettative per l'immediato futuro si basano dunque più che sulla terapia, sulla prevenzione che tuttavia non può essere limitata alla individuazione e alla correzione delle anomalie lipidiche, all'abolizione del fumo di sigaretta, alla terapia dell'ipertensione e alla terapia ormonale sostitutiva della menopausa. Questi fattori di rischi non sono infatti presenti in oltre un terzo dei pazienti che sviluppa una malattia cardiovascolare. E' vero che la presenza anche a livello minimale di più fattori di rischio risulta in un rischio finale molto più elevato del prevedibile, tuttavia l'effetto moltiplicativo di più fattori nello stesso soggetto, è spesso insufficiente a spiegare l'insorgenza della malattia aterosclerotica. Del resto la patogenesi dell'aterosclerosi sfugge ancora ad un'interpretazione chiara ed il maggior ostacolo alla programmazione di una valida strategia di prevenzione è proprio rappresentato dall'incompleta conoscenza dei fenomeni alla base dello sviluppo della placca aterosclerotica e dell'evoluzione stenotica della lesione.

Dei 246 **fattori di rischio** per l'aterosclerosi descritti da Hopkins e Williams nel 1981, solo i maggiori (**dislipidemia, fumo, ipertensione, diabete, età, sesso e familiarità**) hanno confermato nel tempo la loro validità di indicatori clinici di rischio cardiovascolare. A questi se ne sono aggiunti di nuovi, alcuni derivati dall'osservazione sperimentale, altri dalla rilevazione epidemiologica e clinica. Per nessuno di essi si hanno al momento prove certe di un loro ruolo nel processo aterosclerotico o nella patogenesi dell'evento occlusivo, anche se non mancano elementi suggestivi di un loro significato predittivo che potrebbero sostanzialmente cambiare il modello di stima del rischio cardiovascolare individuale e aprire nuove prospettive di prevenzione. Essi sono:

↳ **le lipoproteine perossidate**: è stato ampiamente dimostrato il nesso causale tra la concentrazione plasmatica delle *lipoproteine a bassa densità (LDL)* e la malattia aterosclerotica. Si è infatti constatato che l'accumulo di colesterolo nella cellula schiumosa, che rappresenta il fenomeno iniziale dell'intero processo aterogenetico, è determinato dall'interazione tra LDL perossidate e recettori specifici situati sulla membrana dei macrofagi. E' evidente che tanto maggiore è la concentrazione plasmatica delle LDL, tanto maggiore è la probabilità di una loro perossidazione per opera dei radicali liberi dell'ossigeno prodotti dal metabolismo cellulare. Il ruolo delle LDL perossidate non sembra esaurirsi con l'arricchimento in esteri del colesterolo dei macrofagi. Alle LDL perossidate vengono infatti attribuiti effetti tossici sulle cellule endoteliali, un ruolo inibitorio diretto sulla produzione da parte dell'endotelio del fattore di rilascio endoteliale (EDRF o

ossido nitrico), uno stimolo della risposta infiammatoria ed immune, un'attivazione delle piastrine e della cascata coagulativa. In sintesi le LDL perossidate entrerebbero in gioco nel determinismo della cosiddetta "*disfunzione endoteliale*" cui si tende oggi ad attribuire un peso determinante nell'evoluzione della malattia aterosclerotica. Lo studio delle LDL perossidate può pertanto essere un mezzo di stima del rischio cardiovascolare più utile della stessa determinazione quantitativa delle LDL. Al momento sono risultati poco affidabili i metodi di dosaggio delle LDL perossidate;

- ⇒ **le sottofrazioni delle lipoproteine ad alta densità (HDL):** studi clinici hanno dimostrato che le HDL contenenti solo *apolipoproteina A-1 (APO A-1)* sono più strettamente correlate con la cardiopatia coronarica rispetto alle HDL contenenti sia APO A-1 che APO A-2, confermando clinicamente la maggiore attività della *lipoproteina A1 (Lp A1)* nel trasporto inverso del colesterolo;
- ⇒ **la Lipoproteina (a),** che si presenta come una LDL circondata da un'apoproteina specifica, APO (a), unita all'APO B-100 della LDL da un ponte disolfuro. La Lp (a) interagisce con i recettori dei macrofagi e contribuisce pertanto alla loro trasformazione in cellule schiumose e all'avvio ed accrescimento della placca aterosclerotica. Inoltre, la composizione aminoacidica dell'APO (a) è straordinariamente simile a quella del plasminogeno e conferisce alla lipoproteina un'azione di competizione con il sistema fibrinolitico. Ne risulta un'attività tendenzialmente trombogena che, almeno in via teorica, può essere causa delle complicanze trombotiche tipiche della fase avanzata della malattia aterosclerotica. Sebbene numerosi studi abbiano portato prove convincenti di una positiva associazione tra LP (a) e rischio di cardiopatia coronarica, il suo significato come marcatore di rischio cardiovascolare manca ancora di un'evidenza conclusiva;
- ⇒ **il fibrinogeno,** al quale viene attribuito un indubbio peso predittivo nei confronti sia della cardiopatia ischemica, sia dell'ictus cerebrale. Il meccanismo attraverso il quale l'iperfibrinogenemia può promuovere l'aterosclerosi e la trombosi non è ancora chiaro. Il fibrinogeno inoltre è caratteristicamente una proteina della fase acuta ed aumenta in risposta ad un qualunque processo infiammatorio. Una componente cellulare infiammatoria è del resto sempre presente nel processo aterosclerotico e sembra svolgere un ruolo rilevante nella patogenesi della malattia stessa e delle sindromi cliniche acute quali l'angina instabile e l'infarto del miocardio. Se l'aterosclerosi è associata ad una risposta infiammatoria o evoca, almeno in alcune condizioni cliniche, una reazione infiammatoria, non è sorprendente l'osservazione di una elevazione delle proteine della fase acuta, come il fibrinogeno e la Proteina C reattiva;
- ⇒ **i fattori della coagulazione:** già da tempo è stato sottolineato il valore predittivo nei confronti della cardiopatia ischemica di alcuni fattori della coagulazione quali ad esempio il *fattore VII* e l'*inibitore dell'attivatore del Plasminogeno (PAI-1)*.

Il primo analita utilizzato nella diagnostica dell'*infarto miocardico acuto (IMA)* fu l'**aspartato-amminotransferasi (AST)**, il cui metodo di dosaggio nel siero venne descritto per la prima volta nel 1954. Questo fu gradualmente sostituito a partire dalla metà degli anni '60 dalla *creatina-chinasi (CK)*. Successivamente con lo sviluppo dei metodi elettroforetici si riconobbe la maggior specificità del pattern isoenzimatico rispetto al CK totale. Nel 1975 fu sviluppato il metodo di dosaggio dell'*isoenzima MB della creatina.chinasi (CK-MB)* per immunoinibizione, mentre qualche anno dopo fu messo a punto il dosaggio RIA della *mioglobina*. Poco dopo la metà degli anni '80 fu prodotto il primo anticorpo specifico per il CK-MB, che oggi è in pratica utilizzato da quasi tutti i kits commerciali. Nel 1989 fu dimostrata l'utilità diagnostica della *Troponina T cardiaca (cTnT)*, mentre nel 1992 comparve il dosaggio della *Troponina I cardiaca (cTnI)*. Nel 1994 un grosso studio dimostrò l'utilità delle *isoforme della CK-MB* nella diagnosi o esclusione di IMA in pazienti afferenti al Pronto Soccorso. Infine, entrambe le Troponine si sono rivelate utili per la stratificazione del rischio in ampi studi clinici pubblicati nel 1996.

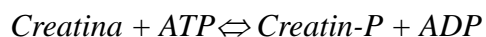
I principali *marcatori del danno miocardico* attualmente disponibili sono qui illustrati.

La *lattato-deidrogenasi (LD)* manteneva una certa utilità nella diagnosi di infarto pregresso prima della messa a punto del dosaggio della Troponine cardiache. La LD è un enzima della via glicolitica che catalizza la seguente reazione di ossidoriduzione:



E' in grado di generare le molecole di  $\text{NAD}^+$  necessarie alla via glicolitica in condizioni anaerobie, quando cioè il ciclo di Krebs non funziona. Dal punto di vista strutturale la LD è un *tetramero* del PM di circa 135 KD costituito da due tipi di *subunità*, **M** e **H**, che, variamente combinate, danno luogo alla formazione di 5 diversi *isoenzimi* (**H<sub>4</sub>**, **MH<sub>3</sub>**, **M<sub>2</sub>H<sub>2</sub>**, **M<sub>3</sub>H**, **M<sub>4</sub>**). In relazione alla loro mobilità elettroforetica questi isoenzimi vengono indicati (dal più anodico al più catodico) rispettivamente **LD1**, **LD2**, **LD3**, **LD4**, **LD5**. Una così vasta distribuzione ha come conseguenza una scarsa specificità dell'LD sierica totale come indice di danno miocardico; infatti l'attività di questo enzima si eleva in circolo nel corso di parecchie condizioni fisiopatologiche. A questo inconveniente si può ovviare, almeno in parte, dosando non solo l'attività totale, ma anche quella dei diversi isoenzimi o, per lo meno, di quelli che si trovano in più elevata concentrazione nel muscolo cardiaco (LD1 e LD2). Dal punto di vista analitico la IFCC ha raccomandato, per il dosaggio dell'attività totale, l'utilizzo della reazione diretta (da Lattato a Piruvato) perché è più lineare nel tempo, si può facilmente seguire monitorando l'incremento di assorbanza a 340 nm dovuto alla produzione di NADH, ed infine risulta più facile ottimizzare le condizioni di reazione in modo da favorire l'attività dell'isoenzima più concentrato nel miocardio (LD1). L'elettroforesi resta invece il metodo di scelta per la separazione ed il dosaggio degli isoenzimi dell'LD. I tempi di rilascio in seguito a danno miocardico con perdita di integrità delle membrane cellulari sono piuttosto tardivi sia per l'LD totale che per l'LD1, perché, pur essendo enzimi citoplasmatici, hanno un PM relativamente elevato. In pratica si verifica un aumento a 8-12 h dall'insorgenza del dolore toracico, un picco di attività a 24-72h, seguito da un ritorno alla normalità dopo 7-12 giorni. E' chiaro, pertanto, che l'LD totale e l'LD1 sono utili come markers di infarto pregresso, anche se oggi, per problemi di scarsa specificità (ricordiamo che l'LD1 si trova in abbondanza anche negli eritrociti e nei reni), questi test sono stati superati dall'introduzione dei più specifici dosaggi delle Troponine cardiache.

La *creatina-chinasi (CK)*, che catalizza la seguente reazione:



è presente, come enzima citoplasmatico in vari tessuti sotto forma di dimero costituito da due tipi di subunità M e B, che danno luogo alla formazione di tre *isoenzimi* diversi, **BB**, **MB** e **MM**, i quali vengono identificati in relazione alla diversa mobilità elettroforetica. Esiste anche un *isoenzima mitocondriale* (*mitCK*). Importanti, infine, per le interferenze analitiche che possono determinare, sono le cosiddette *macroforme* (*macro-CK*), di cui se ne conoscono due tipi:

- ↳ *tipo1 (Macro1-CK)*, che consiste di un complesso tra CK-BB ed una IgG nel rapporto di 2:1;
- ↳ *tipo2 (Macro2-CK)*, non è altro che un oligomero del mit-CK: negli adulti questa variante si trova esclusivamente nel siero di pazienti con cirrosi epatica o neoplasie metastatiche.

La CK è distribuita in vari tessuti con una conseguente scarsa specificità del CK totale quale indice di danno miocardico, soprattutto in presenza di traumi al muscolo scheletrico anche di modesta entità.

Questo ha portato allo sviluppo di metodi per il dosaggio dell'isoenzima a maggior concentrazione nella cellula miocardica (CK-MB). Per quanto riguarda il dosaggio di questo isoenzima nel 1975 è stata sviluppata una tecnica facilmente automatizzabile: l'immunoinibizione. Si sfrutta un anticorpo policlonale anti monomero M e si determina successivamente l'attività residua della CK attribuibile al monomero B non inibito; si moltiplica per 2 poiché la struttura del CK-MB è dimerica. Purtroppo questo metodo risente delle interferenze dovute all'eventuale presenza di macroforme, CK-BB o dell'isoenzima mitocondriale. Dopo il 1985 sono state introdotte tecniche immunochimiche rapide ed accurate che consentono il dosaggio del CK-MB come massa: oggi questi metodi risultano essere quelli più affidabili, precisi e praticabili poiché non risentono di alcun tipo di interferenze e prevedono ridotti tempi di esecuzione. I tempi di rilascio del CK e del CK-MB dopo infarto miocardico sono più precoci rispetto a quelli dell'LD probabilmente a causa del peso molecolare inferiore. Generalmente la CK-MB è presente nel siero in tracce, mentre aumenta nell'IMA 4-6 ore dopo l'insorgenza del dolore, raggiunge il picco di concentrazione dopo 18-22 ore per rientrare nei valori di riferimento 48-72 ore dopo i primi sintomi. Per distinguere patologie a carico del muscolo scheletrico da quelle cardiache, o in casi dubbi di IMA in soggetti in cui la sintomatologia insorge durante o al termine di attività sportiva, è utile ricorrere al calcolo del rapporto percentuale tra CK-MB (ng/mL) e CK totale (U/L a 37°C), che può essere interpretato come indice di necrosi miocardica se superiore a 2,5. L'isoenzima CK-MM è costituito da tre isoforme, indicate, a seconda della mobilità elettroforetica (dalla più anodica alla più catodica), CK-MM1, CK-MM2, CK-MM3. CK-MM3 è la cosiddetta isoforma tissutale o intracellulare (perché è quella che si ritrova all'interno della cellula): è caratterizzata dalla presenza di due lisine carbossiterninali sui monomeri M (una lisina su ciascun monomero). In circolo i monomeri subiscono in due momenti successivi il clivaggio da parte di una carbossipeptidasi sierica, dando così luogo alla trasformazione dell'isoforma CK-MM3 in CK-MM2 (per perdita di una lisina) e CK-MM1 (per perdita di entrambe le lisine). CK-MM2 viene definita isoforma intermedia mentre CK-MM1 isoforma sierica (Fig. 3). La presenza nel siero di CK-MM3 è indice di necrosi miocellulare recente, poiché la carbossipeptidasi sierica non ha ancora avuto il tempo di staccare le lisine, mentre nel siero di soggetti sani la quasi totalità del CK-MM è rappresentata dalla isoforma sierica CK-MM1. Nella diagnostica dell'IMA è preferibile l'utilizzo delle isoforme dell'isoenzima CK-MB, data la sua maggiore cardiospecificità. Il CK-MB è costituito da due isoforme, una tissutale o CK-MB2 con una lisina carbossi-terminale sulla subunità M ed una sierica o CK-MB1 che ha perso la lisina ad opera della carbossipeptidasi. La presenza di CK-MB2 nel siero rappresenta un precoce segno di necrosi miocellulare con specificità miocardica molto più elevata rispetto alla isoforma CK-MM3. A questo proposito è stato dimostrato che CK-MB2 entro le due ore dall'insorgenza dei sintomi ha una sensibilità intermedia tra quella della mioglobina e quella del CK-MB; rimane pertanto il dubbio sull'utilità di questa isoforma come marker precoce di infarto miocardico.

La **mioglobina** è una proteina citoplasmatica localizzata nelle cellule muscolari e cardiache. Purtroppo la forma cardiaca non differisce da quella muscolare scheletrica, per cui non ha nessuna cardiospecificità. Tuttavia grazie al suo basso peso molecolare ed alla sua localizzazione citoplasmatica è la prima molecola rilasciata in circolo dopo un IMA; è pertanto molto sensibile anche se scarsamente specifica. La concentrazione sierica supera i livelli di normalità a 1-3 ore dall'insorgenza dei sintomi, raggiunge il picco dopo 6-9 ore e ritorna normale nelle successive 24-36 ore. Il tasso ematico di mioglobina può aumentare nel corso di numerose situazioni fisiologiche (intenso e prolungato esercizio muscolare) e patologiche (non solo a carico del muscolo scheletrico ma anche a carico dei reni). La scarsa specificità suggerisce di interpretare un valore negativo di mioglobina come ottimo indice di esclusione di IMA, alla condizione che il dosaggio venga effettuato entro la tipica finestra diagnostica compresa tra 1-3 ore dall'insorgenza dei sintomi. E' comunque preferibile valutare cineticamente le eventuali modificazioni dei valori di mioglobina anziché basarsi su un singolo dato soprattutto nei casi

in cui permanga anche il minimo dubbio di IMA. Questa molecola viene utilizzata con successo per la valutazione della terapia trombolitica: in caso di riperfusione coronarica il picco di mioglobina è il più precoce rispetto a quello degli altri markers. In particolare, il rapporto tra il valore ottenuto dopo un'ora dal termine della trombolisi e quello basale pretrombolisi è significativo di avvenuta riperfusione se superiore ad un determinato valore soglia. All'inizio di questo decennio è anche stato messo a punto un immunodosaggio fluorimetrico con doppia marcatura per la determinazione simultanea di Mioglobina e Anidrasi Carbonica III. Questo enzima si trova nel citoplasma delle cellule muscolari scheletriche, ma non in quelle miocardiche; pertanto la contemporanea misura di entrambi i parametri consente di ottenere un'ottima specificità. L'unica limitazione è rappresentata dal lungo tempo di esecuzione che non soddisfa le ovvie caratteristiche di urgenza di questa determinazione.

**Troponine cardiache:** l'unità funzionale delle fibre muscolari striate, scheletriche (lente e rapide) e cardiache, è il sarcomero, compreso tra due strie Z e costituito da filamenti spessi di miosina e filamenti sottili. L'unità strutturale minima del filamento sottile consiste di 7 monomeri di actina legati al complesso troponina-tropomiosina, localizzato lungo il filamento sottile ad intervalli di circa 3.800 nm. Ognuno di questi complessi è costituito di 3 molecole diverse di troponina:

- ↳ **troponina I** (TnI), che inibisce il legame actomiosinico;
- ↳ **troponina C** (TnC), che in presenza di calcio sposta la TnI bloccando l'effetto inibitore di quest'ultima;
- ↳ **troponina T** (TnT) che è legata alla tropomiosina ed ha una funzione di amplificatore di segnale.

Mentre esiste una sola forma della TnC, sono note *tre isoforme* (prodotte da altrettanti geni distinti) sia della TnT che della TnI: *scheletrica lenta* (sTnT ed sTnI), *scheletrica rapida* (fTnT e fTnI) e *miocardica* (cTnT e cTnI). In seguito ad un danno miocardico cTnT e cTnI vengono liberate in circolo e possono essere dosate con metodi immunochimici basati sull'utilizzo di anticorpi monoclonali che riconoscono specificatamente le isoforme cardiache. Purtroppo la situazione è complicata dal fatto che, nel corso dello sviluppo embrionale e fetale, il gene per la cTnT è attivato e trascritto anche nelle fibre muscolari scheletriche e, pertanto, potrebbe essere riespresso anche nell'adulto in seguito ad un danno alla muscolatura scheletrica. Per quanto riguarda la cTnT i dosaggi effettuati con metodi di prima generazione manifestavano una certa cross-reattività per le isoforme scheletriche, dovuta al fatto che l'anticorpo utilizzato era diretto contro la porzione amino-terminale, la quale presenta un elevato grado di omologia tra le diverse isoforme. Questi problemi sono stati superati con i test di seconda generazione nel quale i due anticorpi utilizzati riconoscono epitopi situati 6 aminoacidi a valle rispetto alla porzione amino-terminale rilevata con i tests di prima generazione. Il dosaggio della troponina I cardiaca non ha presentato sin dall'inizio i suddetti inconvenienti perché la presenza, nella regione amino-terminale, di una sequenza addizionale di 31 aminoacidi la rende estremamente specifica. Esistono tuttavia dei problemi comuni ad entrambe le troponine cardiache, dovuti, per esempio, a mancanza di standardizzazione, per cui i valori di riferimento variano da un metodo all'altro. Un ulteriore inconveniente è determinato dal fatto che cTnT e cTnI vengono liberate in circolo non solo in forma libera, ma anche in forma complessata tra di loro e con la TnC; inoltre la cTnI può essere presente in circolo in forma ossidata o in forma ridotta; è chiaro che un metodo ideale dovrebbe riconoscere in modo equimolare tutte queste forme. E' stato recentemente pubblicato uno studio nel quale si è dimostrato che tutti i metodi commerciali per il dosaggio della cTnI, riconoscono entrambe le forme (libera e complessata); in alcuni metodi si è dimostrata una risposta equimolare mentre per altri la risposta per la forma legata è risultata significativamente superiore a quella per la forma libera. E' stata inoltre riscontrata una sostanziale differenza tra i valori misurati con diversi metodi. L'unico kit commerciale per il dosaggio della cTnT è risultato riconoscere le forme libera e complessata in modo pressoché equimolare. In conclusione, quindi, nonostante l'indubbia utilità della cTnI, si sono



riscontrate differenze nei risultati ottenuti con i diversi metodi a causa della mancanza di standardizzazione e della eterogeneità delle cross-reazioni degli anticorpi alle diverse forme di cTnI. Per quanto riguarda i tempi di rilascio, entrambe le troponine cardiache hanno la stessa precocità del CK-MB (4-6 ore dopo l'insorgenza dei sintomi), raggiungono il picco dopo 14-36 ore e tornano ai livelli di normalità dopo 5-9 giorni (cTnI) o dopo 12-14 giorni (cTnT). La lunga permanenza in circolo di queste molecole, dovuta non tanto alla loro emivita (inferiore alle 3 ore) quanto al continuo rilascio, consente di utilizzare le troponine cardiache come markers di infarto pregresso in luogo della LD, con il vantaggio di una maggiore specificità. E' stato dimostrato che anche modesti aumenti di cTnT o cTnI nel siero identificano pazienti con "danno miocardico minimo" che a breve o medio termine, possono presentare un maggior rischio di IMA. A questo proposito sembrano esserci delle differenze tra i due markers dovuti alla diversità della distribuzione intracellulare ed al diverso peso molecolare.

	<i><b>Troponina I Cardiaca</b></i>	<i><b>Troponina T Cardiaca</b></i>
<i>Frazione Citoplasmatica</i>	3% - 4%	6% - 8%
<i>Peso Molecolare</i>	23.500	33.000

Una maggior percentuale citoplasmatica faciliterebbe il rilascio in caso di danno miocardico minimo, di contro un maggior peso molecolare lo ostacolerebbe.

**Catene pesanti e leggere della Miosina:** il principale componente dei filamenti spessi delle fibrille muscolari scheletriche e cardiache è la miosina, eteropolimero composto di due catene pesanti (MHC, PM = 220 KD) e due paia di catene leggere (MLC1, PM= 27 KD; MLC2, PM= 20 KD). Nel miocardio sono presenti 2 isoforme di MHC,  $\alpha$  che è esclusiva del muscolo cardiaco e  $\beta$  che è presente anche nel muscolo scheletrico; questo ha fatto sperare che si potesse mettere a punto un dosaggio specifico. In realtà si è poi visto che in circolo non compaiono le molecole intere, ma solo i frammenti e questo, probabilmente, è la causa della scarsa specificità dei tests finora descritti in letteratura. La cinetica di rilascio delle MHC è molto lenta ed i frammenti si ritrovano nel siero solo dopo 2-10 giorni dall'IMA e sono quindi un indice di infarto pregresso. Non esiste a tutt'oggi un dosaggio specifico per le MLC cardiache. Hanno gli stessi tempi di comparsa in circolo del CK-MB (3-6 ore dall'IMA) e permangono elevate fino a 10 giorni ed, in questo caso, possono essere considerate un indice di infarto pregresso. Tuttavia sia le catene pesanti che le leggere della miosina non hanno trovato molto spazio nella diagnostica cardiologica.

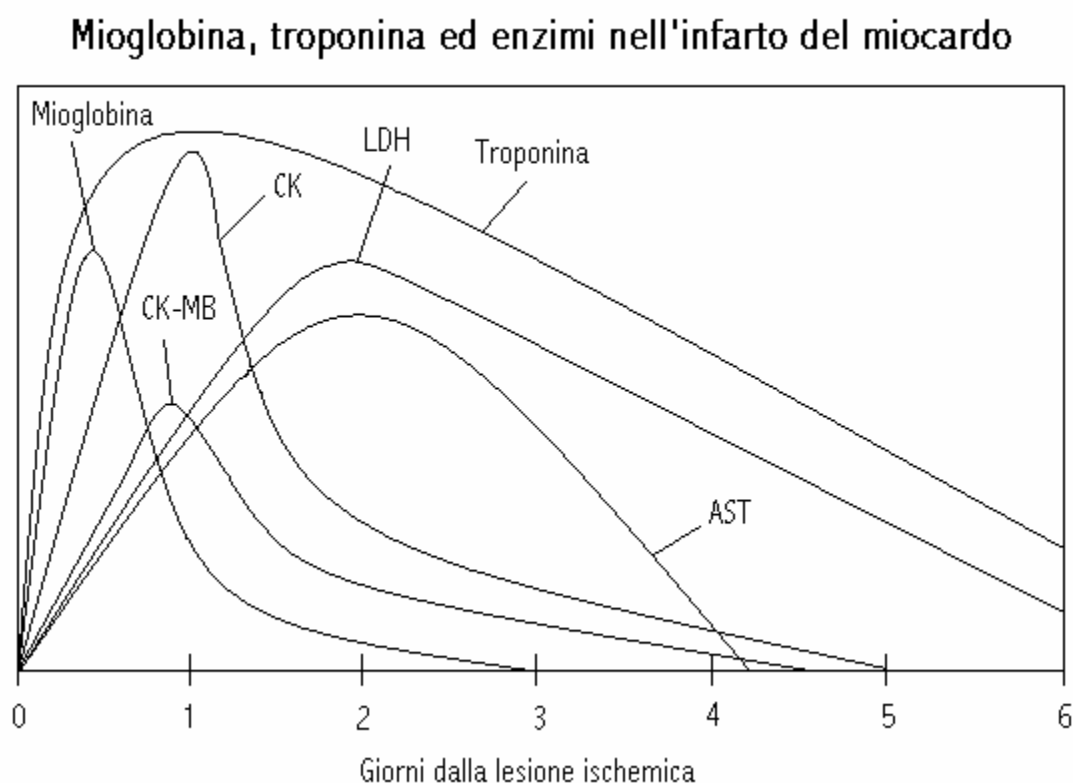
Infine un discorso a parte merita il razionale sulla base del quale alcune molecole attualmente studiate potrebbero rappresentare dei nuovi marcatori di danno miocardico:

- ↳ la sindrome coronarica acuta si associa con un processo infiammatorio e con il conseguente rilascio in circolo delle proteine della fase acuta. Tra queste, si è visto che la concentrazione sierica di **Proteina C Reattiva** (CRP) è aumentata nei pazienti affetti da IMA e correla con l'estensione dell'infarto;
- ↳ dato che il trombo svolge un ruolo fondamentale nell'arteriopatia coronarica, indicatori plasmatici di attivazione della via coagulativa forniscono utili informazioni diagnostiche: infatti la diagnosi di IMA potrebbe essere esclusa in assenza di trombosi attiva. Oggi è disponibile in commercio un kit per il dosaggio dei **polimeri di fibrina solubile**, derivati dal fibrinogeno in seguito al distacco, ad opera della trombina, dei fibrinopeptidi A e B. Purtroppo questo test non può che essere aspecifico dato che l'attivazione della via coagulativa si verifica anche in altre patologie;
- ↳ l'attivazione e l'aggregazione piastrinica costituiscono un altro importante processo verso la formazione di coaguli insolubili. Nel corso dell'attivazione piastrinica una proteina nota come

**GMP-140** o **P-Selectina** viene traslocata dagli  $\alpha$  granuli alla superficie del trombocita e successivamente liberata in circolo, per cui può essere utilizzata come marker di attivazione. Il ruolo di questa molecola nella diagnosi di IMA è attualmente oggetto di studio;

- ↳ la **glicogeno fosforilasi (GP)** è un enzima situato nel reticolo endoplasmico dove catalizza la degradazione del glicogeno. E' un dimero di 188 KD e se ne conoscono 3 isoenzimi: BB che si trova nel cervello e nel cuore, MM che si trova nei muscoli scheletrici, LL che si trova nel fegato. In corso di ischemia la GP viene dapprima rilasciata nel citoplasma e successivamente, quando la permeabilità della membrana cellulare è compromessa, viene liberata in circolo. Alcuni studi hanno dimostrato che, rispetto ai markers classici di IMA (mioglobina, cTnT, CK-MB), GP-BB è più sensibile entro le prime 2-4 ore dall'insorgenza dei sintomi;
- ↳ la **proteina legante gli acidi grassi (FABP)**, situata nel citoplasma dove funziona come trasportatore di acidi grassi a lunga catena, grazie al suo basso PM (14 KD), come la mioglobina viene rapidamente liberata in circolo in seguito a danno della membrana cellulare. L'isoforma cardiaca è distinta da quella intestinale ed epatica, ma purtroppo, come la mioglobina, si trova in quantità significative nel muscolo scheletrico. Tuttavia il contenuto di FABP in questa sede rappresenta solo il 10-30% del contenuto nel miocardio, mentre il contenuto di mioglobina nel muscolo scheletrico è pari a circa il doppio del contenuto nel miocardio. Il dosaggio della FABP cardiaca si è dimostrato essere un marker più precoce della mioglobina.

L'andamento dei principali marcatori illustrati è riassunto nella seguente figura:



Le basi per un razionale utilizzo dei marcatori di lesione miocardica sono state poste sia da un gruppo di studio interdisciplinare ANMCO-SIBioC-SIMeL sia dal National Academy of Clinical Biochemistry

(NACB): entrambi concordano che il terzo criterio delle raccomandazioni OMS per la diagnosi di IMA dovrebbe prevedere l'utilizzo di marcatori biochimici sierici più sensibili e specifici rispetto ai classici marcatori enzimatici (AST, LD, CK totale, attività catalitica del CK-MB che sarebbero da considerarsi obsoleti). Poiché non esiste attualmente un marcatore ideale, sarebbe utile ricorrere al dosaggio di almeno 2 marcatori: il primo, caratterizzato da precocità di comparsa in circolo, è rappresentato dalla mioglobina che con un tempo di comparsa di 2-3 ore ha un elevato valore predittivo negativo; il secondo, caratterizzato da una maggiore specificità, è rappresentato dalle troponine cardiache che compaiono in circolo in tempi relativamente precoci (4-10 ore) e rimangono elevate per 4-9 giorni.