

4^a Sessione

Marcatori biochimici di danno miocardico

Moderatori: Prof. Alberto Notarbartolo (Palermo)
Dott. Francesco Clemenza (Palermo)

I marcatori biochimici di danno miocardico: stato dell'arte

Mauro Panteghini

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche 1, A.O. Spedali Civili, Brescia

L'importanza del contributo della Medicina di Laboratorio in campo cardiologico è significativamente aumentata negli ultimi anni. In particolare, si sono rese disponibili indagini molto sensibili e specifiche per l'evidenziazione del danno miocardico, come le troponine cardiache, ma anche nuovi indicatori biochimici di funzione miocardica, come i peptidi natriuretici cardiaci, assegnando al Laboratorio un ruolo chiave nella diagnosi e nel monitoraggio dei pazienti con patologia cardiaca, come anche testimoniato dalla recente introduzione dell'impiego di questi nuovi marcatori nelle linee guida internazionali e nella nuova definizione d'infarto miocardico. Lo scopo di questa presentazione è quello di rivedere il contributo che la determinazione dei marcatori biochimici di danno miocardico può attualmente fornire alla cura dei pazienti con sindrome coronarica acuta e discutere alcuni importanti aspetti del loro impiego pratico.

I peptidi natriuretici nella diagnostica dello scompenso cardiaco

Mario Plebani, Martina Zaninotto

Dipartimento Interaziendale di Medicina di Laboratorio-Azienda Ospedaliera, Padova

La scoperta ed il riconoscimento del ruolo fisiologico e fisiopatologico dei peptidi natriuretici, associata allo sviluppo di metodologie analitiche che consentono la determinazione delle loro concentrazioni anche in laboratori non specialistici, ha determinato un notevole interesse nella comunità scientifica per la possibile applicazione di questi dosaggi ormonali nella diagnosi e nel monitoraggio di pazienti con insufficienza cardiaca, una patologia nell'ambito della quale la diagnostica biochimica è da sempre risultata ampiamente carente. Va del resto sottolineata la sempre maggiore incidenza dello scompenso cardiaco, una patologia che affligge fino al 2-3% della popolazione totale con una probabilità di sopravvivenza a 4 anni del 50%, e che rappresenta la causa più rilevante di ospedalizzazione nei pazienti anziani con evidenti ricadute sociali ed economiche. E' evidente peraltro che l'invecchiamento progressivo ed inarrestabile della popolazione da un lato, associato ad un miglioramento della sopravvivenza dopo infarto miocardico acuto grazie alle nuove strategie terapeutiche dall'altro, rendono lo scompenso cardiaco una patologia emergente e di sempre maggiore diffusione. Identificare migliori indirizzi diagnostici e terapeutici di questa condizione morbosa può determinare quindi importanti ed efficaci ricadute sulla situazione sanitaria di un paese come l'Italia, in cui la popolazione anziana è in continuo aumento. Il razionale per cui la determinazione dei peptidi natriuretici risponde alle esigenze cliniche descritte è una conseguenza del loro peculiare ruolo fisiologico oltre che dei meccanismi fisiopatologici responsabili del loro rilascio.

Con il termine generico di peptidi natriuretici, infatti, si definisce una famiglia di ormoni presenti normalmente in condizione fisiologiche, sintetizzati nei ventricoli cardiaci, che esercitano effetti biologici estremamente rilevanti sul sistema cardiovascolare tra cui aumento di diuresi e natriuresi, inibizione della secrezione, produzione e/o azione di numerosi fattori neuroormonali (aldosterone, angiotensina II, renina, vasopressina) oltre che diminuzione della pressione arteriosa. Gli effetti descritti, nel loro insieme, si oppongono al sistema neuro-ormonale con attività vasocostrittrice e sodio ritentiva, svolgendo un'azione cardioprotettiva nei pazienti con scompenso cardiaco. Le evidenze descritte, associate ad alcuni lavori suggestivi comparsi nella letteratura più recente, hanno portato all'inserimento della misurazione dei peptidi natriuretici ed in particolare di BNP (Brain Natriuretic Peptide) e NT-proBNP (porzione N-terminale del precursore proBNP) nella pratica clinica cardiologica: le Linee Guida Europee sulla diagnosi e sul trattamento dello scompenso cardiaco prevedono infatti la loro determinazione per porre diagnosi di questa patologia soprattutto nei soggetti asintomatici ma anche in coloro che presentano sintomi suggestivi.

A supporto dell'appropriatezza di tale approccio diagnostico, vi sono le evidenze che dimostrano come esista:- una correlazione diretta tra i livelli plasmatici dei peptidi natriuretici e la classe funzionale del paziente (espressa dalla classificazione NYHA); -una relazione inversa tra concentrazioni dei peptidi natriuretici e Frazione di Eiezione del ventricolo sinistro; un maggior rischio di eventi cardiaci avversi e di morte improvvisa in pazienti con scompenso cardiaco e livelli elevati di peptidi natriuretici. Tra le numerose potenziali applicazioni cliniche del dosaggio dei peptidi natriuretici, il loro utilizzo nella diagnosi differenziale di dispnea in emergenza sembra rappresentare un campo di applicazione con ricadute di efficienza ed efficacia interessanti e suggestive. In una recente esperienza, condotta in collaborazione con il Dipartimento di Emergenza su 117 pazienti consecutivi che si sono presentati con dispnea acuta come sintomo

principale, si è potuto evidenziare l'elevato valore predittivo negativo di NT-proBNP (95%) nell'escludere l'origine cardiaca della dispnea. Inoltre gli aumentati valori di peptide natriuretico osservati in 16 dei 38 pazienti con diagnosi di dimissione di patologia polmonare (DRG, Patologia Polmonare), sembrano attribuibili ad un coinvolgimento cardiaco (scompenso cardiaco n=5; cardiopatia n=11) diagnosticato come patologia associata. Nel 12% di questo gruppo di pazienti, infatti, sono stati riscontrati valori di troponina I superiori al livello decisionale per danno miocardio.

Questa osservazione rafforza la validità di una possibile strategia diagnostica che preveda l'utilizzo combinato di determinazioni biochimiche che forniscono informazioni fisiopatologiche diverse. La determinazione dei peptidi natriuretici circolanti associata a quella dei marcatori di danno miocardio (troponine) o di infiammazione (hs-CRP) in relazione a specifici quesiti diagnostici può creare l'opportunità per un migliore inquadramento clinico del paziente come pure per una eventuale personalizzazione della terapia anche in condizioni di emergenza. Benché la pratica clinica attuale richieda sicuramente livelli di evidenza più forti prima dell'introduzione di un nuovo parametro biochimico in un definito ambito diagnostico, i risultati finora ottenuti suggeriscono che la determinazione dei peptidi natriuretici va a colmare una lacuna di diagnostica biochimica nell'ambito dello scompenso cardiaco, offrendo l'opportunità, grazie alle nuove tecnologie analitiche, di adottare strategie ed algoritmi che garantiscono efficienza ed efficacia nella gestione di una patologia di complessa definizione clinica.

Marcatori di infiammazione e malattie cardiovascolari

Luigi M. Biasucci

Istituto di Cardiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

INTRODUZIONE

Evidenze sperimentali sempre più solide suggeriscono che, in associazione ai fattori di rischio cardiovascolare "classici", i fenomeni infiammatori potrebbero ricoprire una posizione di rilievo nella dinamica del processo aterosclerotico coronarico; inoltre studi recenti hanno dimostrato un coinvolgimento diretto del processo infiammatorio nella patogenesi delle SCA, in cui l'entità della reazione infiammatoria e la prognosi sembrano essere condizionate dall'intensità della risposta individuale a potenziali stimoli ambientali infiammatori. Pertanto i markers sistemici di infiammazione stanno assumendo un ruolo sempre più importante nella stratificazione prognostica e nella gestione terapeutica dei pazienti con SCA e recentemente anche dei pazienti sottoposti a PCI.

Inflammatione e sindromi coronariche acute

Sebbene le SCA riconoscano un comune background aterosclerotico e trombotico, le cause che portano alla destabilizzazione della placca coronarica e alla formazione del trombo sono ancora poco conosciute. D'altro canto la fissurazione di placca non può essere considerata come presupposto necessario e sufficiente delle SCA. La dimostrazione che la rottura di placca è coinvolta nell'infarto del miocardio solo nel 60% dei casi e che i fattori di rischio cardiovascolare "classici" (ipercolesterolemia, fumo, familiarità etc.) sono in grado di spiegare non più del 50% dei casi di infarto del miocardio, ha portato molti autori a ricercare nuovi meccanismi. Nelle coronarie di pazienti con SCA si rilevano trombi multistratificati, segno di uno stimolo trombogenico persistente, non giustificabile con la semplice fissurazione della placca; inoltre in corso di studi autoptici, circa il 40% dei pazienti morti per patologia coronarica acuta, non presenta placche fissurate; d'altro canto queste possono essere dimostrate nel 10-25% di soggetti morti per cause non coronariche. Attualmente un crescente numero di evidenze sperimentali suggeriscono che l'infiammazione giochi un ruolo chiave nello sviluppo delle SCA e che l'individuazione di markers infiammatori possa avere un risvolto clinico in tali sindromi. Sono numerosi i dati sperimentali a favore della presenza di uno stato di attivazione infiammatoria sistemica nei pazienti con angina instabile; possono essere schematicamente raggruppati in due categorie: evidenze istopatologiche e markers sistemici di infiammazione.

Evidenze istopatologiche

Nei pazienti con angina instabile le placche aterosclerotiche coronariche sono caratterizzate dalla presenza di "foam cells", macrofagi, linfociti e "mastcells". La localizzazione principale degli infiltrati infiammatori è a livello della "spalla", l'area elettiva in corrispondenza della quale tende a verificarsi la fissurazione; i vari tipi cellulari sono caratterizzati dall'espressione di antigeni HLA-DR, dato indicativo di un processo infiammatorio in atto. Tali cellule, in particolare i macrofagi, svolgono un ruolo di cruciale importanza nel meccanismo che porta all'attivazione della placca e conseguentemente alla sua fissurazione. Queste osservazioni, pur essendo coerenti con l'idea ampiamente accettata che nell'aterosclerosi sia coinvolta un'importante componente infiammatoria, tuttavia non sembrano essere specifiche: la presenza di linfociti attivati e di macrofagi è stata descritta in segmenti di aorta e coronarie ottenuti da pazienti non selezionati ed anche in pazienti affetti da angina stabile. Tuttavia le placche instabili sembrano essere caratterizzate da una componente infiammatoria particolarmente pronunciata.

Markers sistemici di infiammazione

Attivazione di cellule infiammatorie

Diversi lavori hanno dimostrato che i neutrofili, i linfociti ed i monociti dei pazienti con SCA sono in uno stato attivato; tali dati confermano studi epidemiologici precedenti che correlavano il rischio di un futuro infarto del miocardio al numero

dei leucociti. Le cellule infiammatorie attivate potrebbero contribuire allo shift dell' equilibrio trombosi-fibrinolisi verso uno stato procoagulante. Il nostro gruppo ha confermato la presenza di neutrofili attivati in pz affetti da infarto miocardico ed angina instabile, rilevando una riduzione dell'indice di mieloperossidasi intracellulare (enzima la cui concentrazione intracitoplasmatica risulta inversamente correlata al grado di attivazione del neutrofilo); tale attivazione non è secondaria ad uno stimolo ischemico ma è un evento primario, presente in condizioni basali. Inoltre recentemente abbiamo dimostrato che nei pazienti con angina instabile i neutrofili si attivano dopo il passaggio attraverso il letto vascolare coronarico, e che tale attivazione avviene in tutti e tre i principali rami coronarici, a prescindere dalla localizzazione della "culprit lesion". Neri Serneri et al. hanno dimostrato un'attivazione dei linfociti e monociti nei pazienti con angina instabile, limitata alla fase acuta di instabilità, per cui è stata proposta l'ipotesi che l'angina instabile potrebbe essere associata ad un transitorio ed acuto "burst" di infiammazione, scatenato dall'attivazione di linfociti e monociti da parte di fattori sconosciuti. Inoltre i linfociti ed i monociti circolanti dei pazienti con angina instabile presentano un'aumentata espressione degli antigeni DR di classe II del complesso maggiore di istocompatibilità. Diversi autoantigeni, tra cui OxLDL ed "heat shock proteins", presenti nella placca aterosclerotica, sono in grado di innescare una risposta immunitaria. Agenti infettivi quali *Chlamydia pneumoniae*, Cytomegalovirus ed *Helicobacter pylori* sono stati associati al processo aterosclerotico ed alla cardiopatia ischemica in diversi studi sieroepidemiologici ed istopatologici; tali microorganismi potrebbero costituire uno stimolo per l'attivazione linfo-monocitaria all'interno della placca. Tuttavia i risultati incoraggianti dei primi studi non sono stati confermati dai trials più recenti sull'uso degli antibiotici nelle SCA.

MARKERS SIEROLOGICI

Numerosi markers sierologici sono stati individuati nelle SCA, tra questi in particolare la IL-6, la IL-1Ra, il TNF-alfa, l'IFN-gama ed altre citokine, per alcune, come IL-6, IL-1Ra e IFN-gamma, vi è anche evidenza di un significato prognostico. Discorso simile per le molecole di adesione, che risultano persistentemente elevate in pazienti con SCA. Il limite di questi markers, però è di tipo biologico e di tipo metodologico. Biologico, in quanto hanno in genere una emivita breve e bassissime concentrazioni nel sangue circolante, per cui il loro reale significato, se basato soprattutto su una unica determinazione, non è facile da stabilire, e metodologiche, in quanto i metodi di misurazione non sono standardizzati, sono costosi e richiedono molto tempo per essere effettuati. Per questi motivi, anche se interessanti da un punto di vista concettuale, citokine e molecole di adesione sono sempre risultate globalmente inferiori alla proteina C-reattiva nelle utilizzazioni pratiche.

PCR e stratificazione prognostica

Prognosi a breve termine

Un valore di PCR >3 mg/L all'ingresso nei pazienti con angina instabile ha una sensibilità del 90% ed una specificità dell'82% nel predire complicanze intraospedaliere (morte cardiaca, infarto miocardico, rivascolarizzazione urgente); la sensibilità aumenta fino al 100% nei pazienti con PCR >10 mg/L all'ingresso. Sembrano pertanto esistere due popolazioni tra i pazienti con angina instabile: una con elevati livelli di PCR ed alto rischio ed un'altra con bassi livelli di PCR e basso rischio; nella prima popolazione la reazione infiammatoria probabilmente gioca un ruolo importante nella destabilizzazione del quadro clinico. Nello studio TIMI 11A i livelli di PCR sono risultati correlati con la prognosi (mortalità) a 14 giorni nei pazienti con angina instabile ed infarto miocardico non-Q.

Prognosi a lungo termine

Lo studio ECAT ha chiarito come elevati livelli di PCR siano predittivi per eventi coronarici a 2 anni, indipendentemente da altri fattori di rischio (fumo; età; obesità). Nello studio FRISC livelli di PCR >10 mg/L nei pazienti con angina instabile o infarto miocardico non-Q si associano ad un aumento significativo del rischio di morte ad un follow-up di quattro anni. Il nostro gruppo ha dimostrato che, nei pazienti con angina instabile, livelli elevati di PCR (>3 mg/L) alla dimissione costituiscono un predittore indipendente di morte, infarto miocardico e ricorrenza della sintomatologia anginosa ad un anno di follow-up. Infine Ferreiros et al. hanno dimostrato che, nei pazienti con infarto miocardico non-Q, livelli elevati di PCR all'ingresso e alla dimissione si associano ad un aumento del rischio di morte, infarto miocardico ed angina refrattaria a 90 giorni (75). Nello studio CARE, che ha valutato pazienti con un pregresso infarto miocardico, elevati livelli di PCR sono risultati associati ad un aumento del rischio di morte o di un nuovo infarto. Inoltre in tale studio la pravastatina si è dimostrata in grado di abbassare i livelli ematici di PCR, indipendentemente dagli effetti sulla colesterolemia, e di ridurre significativamente il rischio di morte o di un nuovo infarto miocardico essenzialmente nei pazienti con livelli elevati di PCR, mostrando delle significative proprietà anti-infiammatorie *in vivo*; tali caratteristiche sono state confermate da diversi altri studi *in vivo* ed *in vitro*, anche per altre statine. Rickler et al. hanno inoltre dimostrato, in un lavoro recente, che la terapia con statine (lovastatina) è in grado di ridurre i livelli di PCR ed il rischio di eventi coronarici in soggetti apparentemente sani con elevati livelli di PCR e normali livelli di colesterolemia (prevenzione primaria). Pertanto la combinazione del dosaggio della PCR con quello del colesterolo ematico potrebbe essere utile per una valutazione del rischio globale del paziente e per guidare la terapia con statine. Sia per la prognosi a breve termine sia per quella a lungo termine esistono diverse evidenze che supportano il valore additivo della PCR con quello delle troponine cardiache (T ed I): l'associazione di elevati livelli di PCR con elevati livelli di troponina costituisce un forte predittore di eventi coronarici avversi mentre l'associazione di bassi livelli di PCR e bassi livelli di troponina indica una prognosi eccellente.

L'eccellente valore prognostico della PCR rimane costante anche quando si analizzano pazienti che sono stati sottoposti ad interventi di rivascolarizzazione. In questo caso la PCR predice sia il rischio di restenosi che quello di eventi cardiovascolari maggiori.

I marcatori biochimici nello scompenso cardiaco

Gaspere Parrinello

Associate Professor of Medicine, Chair of Medical Physiopathology, University of Palermo, Italy

Accurate risk stratification that enables both prognostic and diagnostic evaluation has become a fundamental tool in the management of patients with congestive heart failure (CHF). A number of different biochemical markers that may predict disease severity have been identified. Measurement of plasma brain natriuretic peptide (BNP) levels has been suggested to represent a useful marker of left ventricular (LV) dysfunction, LV hypertrophy, and prognosis in patients with CHF.(1)

A further role for BNP in the risk stratification of patients with cardiac failure has emerged. BNP, which is synthesized and stored in atrial and ventricular myocytes, is secreted in response to increased ventricular filling pressure and myocardial distension. BNP participates in guanylate cyclase-mediated adaptive responses to hemodynamic alterations in heart failure. These include increased glomerular filtration rate, peripheral vasodilatation, and attenuation of the renin-angiotensin-aldosterone system. BNP plasma levels are believed to play a role in the assessment of CHF severity and the prediction of disease progression.(1) Although circulating BNP levels in patients with CHF are elevated in proportion to disease severity, plasma levels of BNP may have an additional, more substantial, role as a prognostic indicator. A study of 78 ambulatory patients with CHF revealed that plasma BNP concentrations represent a clinically useful screening tool in the selection of patients who require further risk stratification.(1).

In this study, the prognostic information of plasma BNP was comparable to that of the well-established multivariate heart failure survival score (HFSS). In a further study (2) of patients with acutely decompensated heart failure requiring admission to the coronary care unit, baseline concentrations of BNP were associated with both cardiac deaths and cardiac events. In this study, a BNP concentration of >440 pg/mL on admission was found to reliably risk stratify patients for future cardiac events, with a sensitivity and specificity of 74% and 59%, respectively. These results are supported by evidence from an observational study (3) of patients with decompensated CHF, where the response of BNP levels to treatment was predictive of patient outcome. Patients whose BNP levels at discharge fell below 1220 pg/mL following hospital treatment, were significantly less likely to undergo hospital readmission in the subsequent 30 days. We have studied sixty patients (31 M and 29F) aged from 57 to 88 yr (mean age 65.5 + 11.2 yr) hospitalized for worsening heart failure in the Department of Internal Medicine of Palermo University in the last two years. All the patients were subjected, at the admission and at the discharge from hospital to the evaluation of the hydration state and to the measurement of Brain Natriuretic Peptide (BNP) plasma levels. According with our previous study protocol, all the patients were treated i.v with the association of Furosemide plus Hypertonic Saline (4). The compensation fluid balance were detected by a tetrapolar impedance plethysmography (BIA-101). The resistance (R) and reactance (Xc) values, detected by BIA, were placed into a standardized nomogram for the evaluation of hydration state.(5)

Our results show a significant ($p < 0.001$) reduction of BNP plasma levels after treatment and a positive correlation with the BIA parameters (R-Xc) of hydration state. This findings confirms the role of BNP in the stratification of disease progression according to the volume overload.

An other marker of interest is interleukin 6 (IL-6), a proinflammatory cytokine also thought to play a role in the pathophysiology of CHF. High plasma BNP and IL-6 were found to be independent and accurate prognostic predictors of morbidity and mortality. The predictive value of these biochemical markers was greatest when both BNP (threshold level >240 pg/mL) and IL-6 (>3.0 pg/mL) were used in combination. (6).

Several studies have shown that cardiac troponin T (cTnT) and cardiac troponin I (cTnI) are increased in patients with advanced heart failure and that the concentrations of these biomarkers closely parallel disease severity.(7-9). Recent studies have shown that cardiac troponin evaluations may be associated with short- and long-term outcomes in a subset of patients with chronic heart failure.(10-12). These findings, coupled with the high cardiospecificity of both troponins, suggest that ongoing myocardial cell injury plays an important role in the pathophysiology of chronic heart failure, and can be documented by cardiac troponin elevations(7-12).

Measuring the combination of admission concentrations of cTnT and BNP may be a highly effective means of risk stratification of patients hospitalized for worsening chronic heart failure(13).

Recently, Adrenomedullin, Cardiotrophin-1, Apelin, Urotensin-II, Heart Fatty Acid Binding Protein (H-FABP), Myosin Light Chain 1(MCL-1), Plasma Surfactant Protein-B, Serum Soluble ST2 Receptor, Vasoactive Intestinal Peptide(VIP), have been identified as biochemical markers that may predict disease severity, but to date their impact on prognostic stratification of CHF patients is controversial.

The serial clinical use of these biochemical markers, separately or in combination, will sharpen our understanding of the state of heart failure.

References

1. Koglin J et al. J Am Coll Cardiol. 2001;38:1934-1941.
2. Ishii J et al. Am J Cardiol. 2002;89:692-695.
3. Cheng V et al. J Am Coll Cardiol.2001;37:386-391.
4. Licata G et al. Am Heart J 2003;145:459-66.
5. N.I.H. Technology Assessment Conference Statement. Am J Clin Nutr. 1996; 64:524.

6. Maeda K et al. J Am Coll Cardiol. 2000;36:1587-1593.
7. Missov E et al. Circulation 1997;96:2953-2958.
8. La Vecchia L, et al. Am J Cardiol 1997;80:88-90.
9. Missov E et al. Am Heart J 1999;138:95-99.
10. Setsuta K, et al. Am J Cardiol 1999;84:608-611.
11. La Vecchia L et al. J Heart Lung Transplant 2000;19:644-652.
12. Del Carlo CH et al. Am Heart J 1999;138:646-653.
13. Junnichi I et al. Am J Cardiol 2002;89:691-695