

BIOCHIMIA APARATULUI CARDIOVASCULAR

Cea mai frecventă modificare patologică care afectează funcția cardiacă este, paradoxal, **ischemia** (lipsa unui flux sangvin adecvat care să asigure oxigenul necesar funcționării miocardului).

Deși inima pompează în fiecare minut câțiva litri de sânge, vascularizația și transportul de sânge arterial la inimă se realizează prin arterele coronare care pot fi afectate de **ateroscleroză** (proces cronic de afectare a endoteliului vascular prin care se produc plăci aterosclerotice ce pot obtura parțial sau total lumenul vascular, diminuând în consecință fluxul sangvin; de asemenea plăcile aterosclerotice favorizează apariția trombilor sangvini ce pot bloca total sau parțial ramurile arterelor coronare, apărând sindromul coronarian acut).

Grupul de boli ce se dezvoltă în urma afectării fluxului sangvin coronarian constituie **boala coronariană**, manifestarea ei cea mai gravă fiind **infarctul miocardic acut (IMA)**, când arterele coronare sau ramurile lor sunt blocate total și apare necroza celulelor miocardului.

I. Biomarkeri ai leziunilor cardiace ischemice

În funcție de dimensiunea teritoriului necrozat, moartea celulară va determina eliberarea a numeroși compuși biochimici, mai mult sau mai puțin specifici miocardului a căror determinare poate stabili un diagnostic pozitiv rapid, esențial pentru salvarea vieții pacientului.

Dintre **biomarkerii asociați ischemiei și necrozei celulelor cardiace**, în prezent, **cel mai specific și sensibil biomarker este considerat a fi troponina cardiacă**. Alți biomarkeri cardiaci utili în diagnostic sunt: creatinkinaza (CK: CK total și izoenzima CK-MB), ASAT (GOT), LDH, mioglobina, dar specificitatea lor este mai mică fiind regăsite și în alte teritorii tisulare.

Evoluția concentrației biomarkerilor cardiaci pentru necroza celulelor miocardice, precum și a biomarkerilor pentru diferențierea acestora de alte patologii, este diferită în intervalul de timp scurs de la evenimentul ischemic (Tabelul 1 și Figura 1).

Tabelul 1. Principalele caracteristici ale biomarkerilor cardiovasculari

Marker cardiac	Greutate moleculară (GM, Da)	Debut (ore)	Maxim (ore)	Dispariție (zile)
CK	80000	4-8	18-30	3-4
CK-MB	80000	3-8	12-24	2-3
LDH	135000	8-12	48-72	8-14
Mioglobină	18000	1-3	6-9	1
Troponină I	24000	3-8	24-48	4-10
Troponină T	37000	3-8	24-48	4-10
ASAT (GOT)		72-96	5-6 zile	12-14
D-Dimeri	200000	4-8	12-24	2-4
Peptidul natriuretic de tip B (BNP)		8-12	12-24	2-3

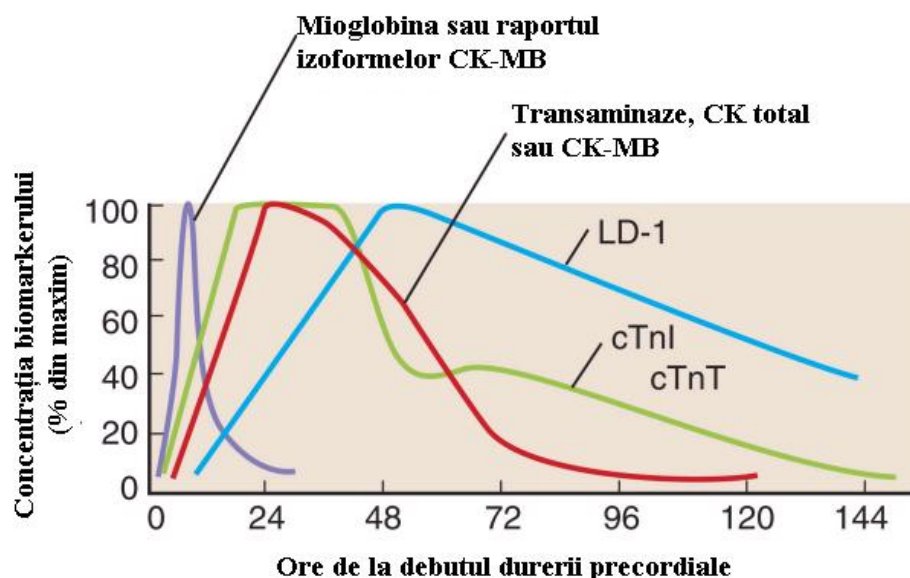


Figura 1. Evoluția în timp a concentrațiilor biomarkerilor din IMA

1. Troponina cardiacă

Troponina (Tn) este un complex reglator format din 3 proteine localizat la intervale regulate în filamentele subțiri ale mușchilor striati (compuse din actină, tropomiozină și troponină).

Cele trei proteine individuale sunt: **TnT** (subunitatea legată de *tropomiozină*, 37kDa), **TnI** (subunitatea inhibitoare, legată de *actină*, 24k Da), și **TnC** (subunitatea ce leagă Ca^{2+} , 18kDa). În starea de relaxare musculară, TnI este legată de actină, blocând legarea acesteia de miozină. Declanșarea contracției musculare se realizează de către Ca^{2+} care se leagă de TnC, cauzând o modificare conformațională care desprinde TnI de pe actină, permițând ca interacțiunea între actină și miozină să aibă loc.

Spre deosebire de ceilalți markeri, formele de Tn din mușchii scheletici și cardiaci diferă.

Pentru **TnC** formele găsite în fibrele de tip 2 ale mușchilor scheletici și miocard sunt identice, făcând imposibilă utilizarea acestora ca marker diferențial.

TnI are o formă cardiospecifică (cTnI=cardiac TnI), cât și forme diferite în fibrele mușchilor striati de tip 1 și tip 2, fiecare fiind codată de o genă separată.

TnT prezintă forme distincte în miocard (cTnT=cardiac TnT), mușchi scheletici cu contracție rapidă și contracție lentă, însă cTnT a fost detectată în mușchi scheletici fetali și în mușchi scheletici bolnavi. În orice caz, modificările post-translaționale produc diferențe detectabile între cTnT produsă în miocard și cTnT produsă în mușchi scheletici bolnavi, astfel încât testele comerciale de analiză din generația curentă (ELISA), ar trebui să aibă specificitate miocardică aproape de 100%. Totuși, creșteri ușoare de cTnT circulant, utilizând chiar teste de analiză mai noi, au fost raportate la pacienți cu distrofie musculară și insuficiență renală, care nu prezintă alte dovezi de boală cardiacă.

În *miocitele cardiace*, cTnT și cTnI sunt **legate** predominant de fibre musculare, cum s-a descris mai sus, iar forma legată este eliberată încet, în decursul a 1-2 săptămâni după infarctul miocardic.

Astfel, desi cTnI și cTnT sunt proteine relativ mici, care sunt rapid eliminate, nivelul lor plasmatic scade încet după leziuni cardiace.

O fracțiune mică de cTn din celulele miocardice se găsește **liberă** în citoplasmă (în medie 6% pentru cTnT și 2,5 % pentru cTnI). Fracțiunea liberă este

eliberată timpuriu din celulele miocardice afectate și permite detecția ei într-un interval de timp similar cu CK-MB, cTn atingând un maxim la aproximativ 24 de ore după infarctul miocardic.

Datorită eliberării lente a fracțiunii de cTn legate, scăderea rapidă a cTn circulant imediat după atingerea maximului, este urmată de un platou sau chiar de o ușoară creștere secundară. Este important ca o asemenea creștere să nu fie interpretată ca un marker al unui alt infarct. cTn circulant scade la valori normale după 5-10 zile, în funcție de dimensiunea infarctului.

2. Creatin kinaza (CK)

CK este o enzimă dimerică formată din 2 subunități catalitice (lanțuri polipeptidice cu structură diferită, având greutatea moleculară de aprox. 40 kDa fiecare) numite M (muscle=mușchi) și respectiv B (brain=creier). Cele 3 **izoenzime** care rezultă prin asocierea celor două subunități sunt: CK-BB (CK₁, conținând 2 lanțuri B), **CK-MB (CK₂, conținând un lanț B și un lanț M)**, CK-MM (CK₃, conținând 2 lanțuri M).

CK este răspândită în întreg organismul, având însă cele mai mari concentrații în mușchi și creier, deși practic CK din creier nu străbate bariera hemato-encefalică pentru a ajunge în plasmă. În creier și în mușchiul neted izoenzima dominantă este CK-BB.

În cordul normal, un procent de 15-20% din CK este reprezentată de CK-MB restul fiind CK-MM, care însă nu este uniform răspândită, o cantitate mai mare găsindu-se în cordul drept comparativ cu cordul stâng.

CK-MB reprezintă 0-1% din CK în fibrele de tip 1 din mușchiul scheletic și 2-6% în fibrele de tipul 2. De asemenea, se observă o producție sporită de CK-MB comparativ cu producția de CK-MM în timpul procesului de regenerare musculară.

Concentrația serică a CK și a **CK-MB** începe să crească la 3-8 ore după producerea IMA, iar cantitatea eliberată este proporțională cu masa necrozei. Enzima atinge un maxim la 24 ore și revine la valoarea normală după 48-72 ore (Figura 1).

Determinarea fracțiunii CK-MB se realizează prin tehnici imunometrice, fiind o determinare cantitativă (nu se determină activitatea enzimatică). Datorită faptului că CK-MB nu este specifică în totalitate miocardului (există și în mușchii striati), mai util în diagnosticul de laborator al IMA este raportul dintre CK-MB (exprimată cantitativ ca și concentrație) și activitatea CK total (măsurată ca activitate enzimatică, U/L, această determinare fiind mai accesibilă din punct de vedere al costului), numit index relativ (IR) sau procentaj relativ, deoarece se utilizează unități de măsură diferite pentru cele două componente din raport. Un IR mai mare este caracteristic pentru IMA, iar CK-MB trebuie să depășească limita superioară a intervalului de referință atât cantitativ (>5 ng/ml) cât și procentual prin calculul IR (>6%). De asemenea, pentru un diagnostic exact, trebuie luată în considerare și evoluția în timp a concentrației enzimei (Figura 1).

Supuse electroforezei, două izoenzime CK (CK-MB și CK-MM) prezintă la rândul lor specii moleculare diferite numite **izoforme**, care iau naștere sub acțiunea a unor carboxipeptidaze serice care hidrolizează resturile terminale de lizină (Liz) ale subunității M.

Astfel CK-MB poate avea un rest de Liz hidrolizat (CK-MB₁) sau nici unul (CK-MB₂), în timp ce CK-MM poate avea lizate un rest de lizină (CK-MM₂), două resturi de Liz (CK-MM₁) sau nici unul (CK-MM₃). Această modificare prin care iau naștere izoformele CK apare doar după eliberarea enzimelor în sânge în urma leziunilor tisulare. Astfel, în **IMA**, izoformele native, tisulare, fără resturi de lizină hidrolizate ale CK (CK-MB₂ și CK-MM₃) sunt eliberate în circulație fiind nevoie de câteva ore pentru a se transforma în izoformele CK-MB₁ și CK-MM₁/CK-MM₂.

În consecință, un raport mai **mare CK-MB₂/CK-MB₁ și CK-MM₃/CK-MM₁** arată că a avut loc o eliberare recentă de enzime în circulație. Această creștere a raportului izoformelor se observă cu puțin timp înainte ca CK-MB seric se depășească limita superioară a intervalului de referință, astfel încât, în primele 3-4 ore de la debutul simptomelor, prin această determinare se poate mări sensibilitatea diagnosticului de IMA. Testarea se poate realiza cu un sistem rapid de electroforeză care însă va rămâne dedicat acestui tip de analiză.

3. LDH (lactat dehidrogenaza)

LDH este o enzimă cu Zn, cu greutate moleculară de 135 kDa, având o structură tetramerică ce implică două subunități, H (heart=inimă) și M (muscle=mușchi). Prin combinarea celor 2 subunități rezultă 5 izoenzime: LDH₁ (HHHH), LDH₂ (HHHM), LDH₃ (HHMM), LDH₄ (HMMM) și LDH₅ (MMMM). Izoenzima LDH₁ este relativ abundentă în miocard, iar izoenzima LDH₅ este mai răspândită în mușchii striati.

Este un marker de necroză miocardică mai puțin specific care contribuie alături de CK la diagnosticul tardiv al IMA, cinetica sa plasmatică fiind lentă (Figura 1). Dezavantajul său este specificitatea foarte slabă pentru miocard, mai putând fi eliberată din mușchiul scheletic, plămân, rinichi, ficat, eritrocite. Specificitatea LDH este crescută prin analiza activității izoenzimei LDH₁.

Activitatea **LDH₁** crește în 8-12 ore de la debutul necrozei, atinge un maxim la 48-72 ore și revine la normal în 8-14 zile după IMA. Pentru că timpul de înjumătățire este prelungit, LDH₁ este utilă pentru diagnosticul pacienților prezentați tardiv. Creșterea raportului LDH₁/LDH₂ peste 0,75, determinată de mărirea concentrației LDH₁ față de LDH₂ (*normal LDH₂>LDH₁*), are o sensibilitate și o specificitate de peste 90% pentru necroza miocardică.

În prezent este o determinare rar utilizată comparativ cu markerii de elecție (cTn, CK-MB).

4. Mioglobina

Mioglobina este o hemoproteină care leagă oxigenul în mușchii scheletici și miocard. Există o singură formă comună ambelor tipuri de mușchi. Lipsindu-i specificitatea cardiacă, utilitatea mioglobinei derivă din cinetica acesteia (Figura 1).

Având o greutate moleculară de doar 18 kDa, se difuzează din celulele afectate mai rapid decât celelalte proteine.

Concentrații serice mărite apar după 1-3 ore de la primele simptome ale IMA, mai rapid decât în cazul troponinei sau al altor markeri. Mioglobina se elimină în principal prin filtrare glomerulară.

Timpul de înjumătățire este de aproximativ 4 ore, dar este mai lung dacă funcția renală este alterată.

În mod caracteristic, nivelul de mioglobină atinge un maxim la aproximativ 6-9 ore după IMA și revine la valori normale după 24 de ore. La indivizii sănătoși, nivelul mioglobinei depinde de masa musculară și activitatea musculară, similar cu tiparul CK.

Nivelele plasmatică sunt mai ridicate la bărbați decât la femei. Nivelul de mioglobină crește cu vârsta, reflectând scăderea vitezei de filtrare glomerulară. Variația zilnică este de aproximativ 10-15%.

În ciuda lipsei de specificitate a mioglobinei pentru miocard, ca test pentru IMA oferă specificitate clinică destul de ridicată (95%), atunci când pacienții cu insuficiență renală sau cei suspecți de boli musculare sunt excluși. Specificitatea mioglobinei poate fi crescută prin măsurarea simultană a anhidrazei carbonice III (ACIII), care este prezentă în mușchiul scheletic dar nu și în mușchiul cardiac.

Raportul *mioglobină/ACIII* va crește în IMA și nu va crește în leziuni ale mușchiului scheletic.

Sensibilitatea mioglobinei poate fi mărită prin considerarea unui rezultat pozitiv atunci când, chiar dacă valoarea se încadrează în intervalul de referință, aceasta a suferit o modificare considerabilă (delta mioglobina), față de o determinare a unei probe de la același pacient cu 1-3 ore anterior.

5. Transaminaza ASAT (GOT)

Este unul din primii markeri enzimatici care a fost utilizat pentru diagnosticul IMA, în prezent fiind înlocuit cu markeri mult mai specifici, prezentați anterior. Enzima este eliberată consecutiv necrozei miocardice, dar nu este specifică.

Activitatea sa poate să crească și în boli de citoliză hepatică (ficatul de stază), afecțiuni pulmonare (tromboembolismul pulmonar), afecțiuni și traumatisme musculare, gangrene, anemii hemolitice, pancreatite acute. Cinetica este similară CK (Figura 1).