Rassegna

Il ruolo della determinazione dell'Albumina Modificata dall'Ischemia nella medicina d'emergenza

G. Lippi [a,b], M. Montagnana [a], G.C. Guidi [a,b]

[a] Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona
[b] Comitato Italiano per la Standardizzazione dei Metodi Ematologici e di Laboratorio (CISMEL)

Riassunto

Un'aumentata produzione di radicali liberi e di altre specie reattive in seguito alla riperfusione di tessuti ischemici, altera struttura, metabolismo e funzione delle proteine. Nell'albumina umana, i processi ossidativi indotti dai radicali liberi nella regione N-terminale alterano la capacità di legare i metalli di transizione come il nickel ed il cobalto. L'albumina così modificata è denominata Albumina Modificata dall'Ischemia (IMA), e può essere misurata nel siero e nel plasma mediante una semplice e rapida metodica colorimetrica. Osservazioni cliniche indicano che il dosaggio dell'IMA potrebbe fornire utili informazioni nella valutazione di eventi cardiovascolari, consentendo il riconoscimento dell'ischemia miocardica prima della comparsa di danno irreversibile e necrosi. In associazione ai tradizionali biomarcatori di danno cardiaco, un valore non diagnostico di IMA esclude la presenza d'ischemia cardiaca, consentendo di indirizzare il clinico verso una diagnosi alternativa o di dimettere il paziente. Un valore positivo di IMA potrebbe essere d'ausilio nell'identificare individui ad alto rischio, soggetti a condizioni ipossiche locali o sistemiche, che potrebbero beneficiare di un trattamento precoce.

Parole chiave: **Sindrome coronarica acuta, ischemia cardiaca, albumina modificata dall'ischemia, infarto miocardico.**

Summary

Determination of Ischemia Modified Albumin in emergency medicine

Enhanced generation of free radicals and other reactive species following reperfusion of ischemic tissues is associated with alteration of the protein structure, metabolism and function. In the human albumin moiety, free radicals-induced oxidative modifications at the N-terminal region impair the binding capacity to transition metals, such as nickel and cobalt. This peculiar form of modified albumin is hence designated as ischemia modified albumin (IMA), which can be assayed in serum or plasma by a simple and rapid colorimetric assay. Preliminary clinical evidences indicate that IMA measurement may provide useful information on the risk of cardiovascular events, enabling recognition of myocardial ischemia before the onset of irreversible cardiac injury and necrosis. In association with traditional biomarkers of myocardial damage, a non-diagnostic IMA value would efficiently rule out cardiac ischemia and consideration could be made to either formulate an alternative diagnosis or discharge the patient. A positive IMA value could also help to identify higher risk individuals, suffering from local or systemic hypoxic conditions, who may benefit from early triage and intervention.

Ricevuto: 05-05-0006 Accettato: 02-08-2006 Pubblicato on-line: 20-11-2006

Corrispondenza a: Prof. Giuseppe Lippi, Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi, Osp. Policlinico G.B. Rossi, P.le Scuro 10, 37134 Verona. Tel. 045-8074517, fax 045-8201889, e-mail: ulippi@tin.it

Introduzione

La sindrome coronarica acuta (SCA) sottende uno spettro ampio ed eterogeneo di situazioni cliniche caratterizzate da una comune fisiopatologia. In termini clinici, la SCA comprende l'ischemia miocardica transitoria, condizione caratterizzata da deficit di ossigenazione del miocardico senza comparsa di danni irreversibili, l'angina instabile, complesso di sintomi che caratterizzano un quadro clinico acuto e progressivo, e l'infarto acuto del miocardio, determinato da danno irreversibile del tessuto cardiaco (necrosi), segnalato dal rilascio nel sangue di sostanze intracellulari o indici di necrosi miocardica e dalle caratteristiche alterazioni del tracciato elettrocardiografico (sopra- o sotto-slivellamento del tratto ST e comparsa dell'onda Q)[1]. La SCA rappresenta oggi la principale causa di mortalità e morbilità nei Paesi occidentali industrializzati[2]. La SCA è causa ogni anno di 1.9 milioni di decessi negli Stati dell'Unione Europea, contribuendo fino al 40% della mortalità in ambo i sessi. La SCA è inoltre la patologia più frequentemente sospettata e/o diagnosticata presso i dipartimenti di medicina d'emergenza, investendo una considerevole parte delle risorse umane ed economiche[3]. Il ritardo nel formulare la diagnosi ed instaurare la terapia idonea rappresenta l'indicatore principale di prognosi sfavorevole, poiché il tempo intercorso tra la comparsa dei sintomi ed il ricovero presso l'Unità Coronarica si rivela essenziale nel limitare l'entità del danno ischemico e prevenire le complicanze a breve e medio termine[4]. La diagnosi precoce della SCA garantisce inoltre vantaggi economici e terapeutici a lungo termine, consentendo di prevenire o identificare aritmie cardiache e limitare l'occorrenza del reinfarto[5].

I ragguardevoli progressi nell'approccio clinico alla SCA, promossi dall'identificazione di un'ampia serie di biomarcatori di danno miocardico, hanno consentito di ottimizzare le strategie diagnostiche e gestionali dei pazienti ricoverati presso i dipartimenti di medicina d'emergenza con sospetto di SCA. Malgrado le troponine cardiospecifiche (troponina I e T) rappresentino il "gold standard" biochimico nel sospetto di SCA[6], parte dell'efficienza diagnostica ricade tuttora nell'abilità del clinico d'individuare ed applicare razionalmente un'efficace strategia d'indagine[7]. I segni clinici ed i marcatori cardiaci disponibili in routine non possiedono, infatti, caratteristiche di sensibilità e specificità sufficienti per una diagnosi di certezza d'ischemia o infarto del miocardio in ambito pre-ospedaliero o nelle prime 4-6 ore dal ricovero nel dipartimento di medicina d'emergenza[8]. Di conseguenza, strategie in grado d'abbattere i ritardi diagnostici hanno il potenziale di razionalizzare l'utilizzo dei protocolli diagnostici, migliorando di concerto l'outcome del paziente[9]. Infine, malgrado il valore prognostico delle troponine sia universalmente riconosciuto, esse non manifestano caratteristiche di assoluta specificità, giacché esse possono talora aumentare nel sangue in situazioni cliniche non necessariamente legate a processi di natura trombotica o ischemica (Tab. I)[10].

Tabella I. Principali patologie cardiache ed extra-cardiache caratterizzate da aumento delle troponine cardiospecifiche[10,43].

Patologie cardiache
- Sindromi Coronariche Acute
- Interventi di angioplastica coronarica
- Trapianto cardiaco
- Miocarditi ed endocarditi
- Pericarditi
- Traumi cardiaci
- Scompenso cardiaco
- Cardiotossicità da farmaci
- Malattia di Pompe

Patologie extra-cardiache
- Embolia polmonare
- Ipertensione
- Insufficienza renale terminale
- Sepsi
- Febbre reumatica acuta
- Amiloidosi
- Emoglobinopatie
- Ipotiroidismo

Generazione dell'Albumina Modificata dall'Ischemia

La molecola dell'albumina subisce in presenza d'ischemia una serie di processi biochimici che ne riducono la capacità di legare i metalli di transizione, come il nickel, il rame ed il cobalto. L'albumina così modificata è comunemente denominata Ischemia Modified Albumin (IMA). Malgrado l'esatto meccanismo di formazione dell'IMA sia tuttora sconosciuto, si ipotizza che le alterazioni strutturali della molecola siano in larga misura conseguenti a fenomeni di ischemia-riperfusione, comunemente associati alla generazione di radicali liberi dell'ossigeno, responsabili di danni biochimici a proteine, membrane cellulari ed acidi nucleici[11]. Durante questi processi, la maggior parte delle proteine del plasma subisce alterazioni ossidative metallo-mediate. L'albumina, principale proteina del plasma in grado di legare i metalli, è particolarmente sensibile a questo complesso fenomeno biochimico. Il sito di legame ai metalli di transizione nella regione N-terminale della molecola subisce infatti un'alterazione di natura ossidativa che favorisce la liberazione nel sangue di una considerevole quantità di cobalto ed altri metalli[12]. La generazione di IMA inizia entro 6-10 minuti da un evento ischemico, producendo un rapido e repentino innalzamento della concentrazione ematica che permane per almeno 6 ore[13]. Questo fenomeno può essere interpretato come una risposta fisiologica dell'organismo alla ridotta perfusione tessutale. L'aumentata liberazione di cobalto da parte delle molecole di albumina modificate dall'ischemia modula e stabilizza alcuni fattori sensibili al-

l'ipossia, primo fra tutti il Fattore Inducibile dall'Ipossia-1 (HIF-1)[14]. In condizioni di normale ossigenazione, la subunità inducibile HIF-1α subisce un processo di degradazione ad opera d'un complesso d'enzimi cellulari, del quale fanno parte specifiche prolil-idrossilasi che utilizzano ossigeno molecolare ed acido chetoglutarico come substrati. L'idrossilazione di due residui di prolina in posizione 402 e 564 consente il riconoscimento di questa subunità ad opera della proteina di von Hippel-Lindau, che ne media la degradazione ad opera di un pool di proteasi endocellulari. In condizioni di normale ossigenazione, anche l'asparagina in posizione 803 subisce una idrossilazione ad opera di un enzima denominato "Fattore inibente l'HIF-1". Questo processo inibisce l'associazione di HIF-1α con il cofattore p300, evento essenziale affinché HIF-1 sia in grado di esercitare la propria funzione d'attivatore della trascrizione dei geni bersaglio. Al contrario di quanto descritto in precedenza, i processi di idrossilazione di HIF-1 non possono aver luogo in carenza d'ossigeno. In ultima istanza, ciò consente ad HIF-1 di associarsi alla corrispondente subunità costitutiva HIF-1², formando un complesso proteico in grado di mediare la trascrizione di geni che codificano enzimi e proteine in grado di prevenire o limitare il danno ischemico, ottimizzando il metabolismo energetico (enzimi della glicolisi anaerobia e trasportatori intracellulari del glucosio), innalzando la capacità di veicolare ossigeno ai tessuti (eritropoietina) o promuovendo la sopravvivenza e la rigenerazione cellulare (Fattore di Crescita Vascolare Endoteliale o VEGF)[15]. Accanto ai meccanismi ossigeno-dipendenti di modulazione dell'HIF, è stato recentemente dimostrato che la sintesi della subunità inducibile HIF-1α può essere anche indotta dal cobalto e da una serie di meccanismi indipendenti dalla presenza d'ossigeno, promossi da citochine e fattori di crescita, tra i quali l'epidermal growth factor (EGF), il fibroblast growth factor 2 (FGF-2), l'hepatocyte growth factor (HGF), l'insulin-like growth factor 1 (IGF-1) e 2 (IGF-2), l'interleuchina-1ß (IL-1 ß), l'insulina, la prostaglandina E2 (PGE2), il transforming growth factor-ß (TGF- ß), la trombina ed il tumor necrosis factor-α (TNF-α). Questo meccanismo alternativo sembra giocare un ruolo determinante nel supposto ruolo di HIF nella sopravvivenza e diffusione dei tumori[16]. Infatti, lo stretto "loop" di reciproca induzione tra fattori di crescita e HIF-1, potrebbe rappresentare un presupposto essenziale per favorire la diffusione dei tumori, ipotesi confermata dall'evidenza immunoistochimica che la sintesi di HIF-1 è aumentata in un gran numero di neoplasie umane[17]. In quest'ottica, l'osservazione clinica che l'ipossia s'associa frequentemente a presenza di metastasi e prognosi infausta nei pazienti oncologici trova un ulteriore razionale nell'accresciuta attività della lisil ossidasi. Questo enzima, essenziale nell'attribuire maggiore invasività alle cellule neoplastiche ipossiche, appare prepotentemente attivato dall'HIF in soggetti con tumori di varia natura[18].

Determinazione dell'Albumina Modificata dall'Ischemia.

L'IMA può essere dosata nel siero e nel plasma con un semplice metodo quantitativo colorimetrico, originariamente sviluppato da Bar-Or nel 2000[19]. Il test è semplice e riproducibile, in quanto presuppone l'utilizzo di uno spettrofotometro e reagenti chimici semplici e poco costosi. In sintesi, una soluzione di cloruro di cobalto è aggiunta al campione in misura; dopo 10 minuti d'incubazione, è dosato il cobalto non legato al frammento N-terminale dell'albumina mediante aggiunta di ditiotreitolo (DTT), quale indicatore colorimetrico. La reazione è bloccata con una soluzione di cloruro di sodio dopo 2 minuti ed il colore viene letto ad una lunghezza d'onda compresa tra 470 e 500 nm. Il bianco prevede un analogo trattamento, ad esclusione dell'aggiunta di DTT. Quando nel campione in esame è presente una bassa quantità di IMA, la maggior parte del cobalto aggiunto alla miscela di reazione si lega all'albumina non modificata; rimane pertanto una minima parte di cobalto in soluzione. In campioni contenenti elevata quantità di IMA la frazione di cobalto legata all'albumina è minore, mentre è maggiore il cobalto libero in soluzione che può reagire con il DTT. Si realizza così una relazione inversa tra cobalto libero in soluzione ed IMA. I valori attesi possono essere espressi in attività (kU/L) a partire dalla corrispondente estinzione mediante interpolazione del valore di IMA prodotto su una curva standard di calibrazione. Oltre alla possibilità di riprodurre "in casa" il metodo, la FDA ha recentemente approvato un kit diagnostico adattabile ad alcune piattaforme analitiche che ne consentono la completa automazione e tempi di risposta molto rapidi, inferiori a 30 minuti[19,20]. La linearità del test è compresa tra 16 e 162 kU/L, con un limite inferiore di sensibilità analitica pari a 13 kU/L. I valori di riferimento, valutati in una popolazione di individui sani, sono compresi tra 52 and 116 kU/L, con un 95° percentile convenzionalmente stabilito tra 85 e 92 kU/L, in relazione alla popolazione da cui esso è dedotto[21-23]. L'intervallo di riferimento varia in gravidanza ed è strettamente correlato all'età gestazionale (Lippi G et al., dati in pubblicazione). Il valore stimato di imprecisione per la metodica automatizzata è inferiore al 10%. Nonostante non sia descritta interferenza da valori elevati di emoglobina o bilirubina presenti nel campione, è stata osservata una significativa correlazione inversa tra IMA, lattato ed albumina. Pertanto, l'utilizzo clinico del dato presuppone una preventiva valutazione di queste variabili, soprattutto qualora la concentrazione di albumina sia <20 g/L o >55 g/L e quella del lattato particolarmente elevata (>5 mmoL/L)[23,24]. Il limite principale di questo dosaggio è la transitorietà della riduzione della capacità legante il cobalto dell'albumi-

na; la fase preanalitica e la conservazione del campione risultano pertanto variabili critiche che possono influenzare i risultati del test (la determinazione dovrebbe essere eseguita entro 120-150 minuti dal prelievo)[19].

Albumina Modificata dall'Ischemia nella sindrome coronarica acuta

La diagnosi differenziale precoce tra ischemia miocardica ed altre potenziali cause di dolore toracico è un obiettivo fondamentale dei dipartimenti di medicina d'emergenza, al fine di operare una scelta terapeutica tempestiva ed idonea al tipo di patologia. L'IMA è sempre aumentato in pazienti con SCA, a partire dalla comparsa di ischemia miocardica transitoria, fin dopo interventi di rivascolarizzazione. Proprio per questo motivo, l'IMA è il primo biomarcatore di ischemia miocardica approvato per uso diagnostico dalla "US Food and Drug Administration"[25]. Nondimeno, i molti studi clinici sull'IMA prospettano tuttora un quadro eterogeneo, complesso e talora contraddittorio.

Christenson e colleghi riconobbero per primi l'IMA quale precoce indicatore d'ischemia miocardica, il cui aumento si manifesta indipendentemente dalla presenza di necrosi. In questo studio, un aumento significativo di troponina fu documentato solamente nel 16% dei pazienti con SCA, con un area sotto la curva ROC per la determinazione dell'IMA di 0.78. Al limite decisionale di 75 kU/L, sensibilità e specificità dell'IMA furono 83% e 69%, con valore predittive positivo e negativo di 33% e 96%, rispettivamente[26]. Su questa base, il test potrebbe trovare idonea collocazione nei protocolli diagnostici per la diagnosi di SCA soprattutto in associazione a marcatori di necrosi, quali CK MB e troponine cardiospecifiche[26]. In uno studio su soggetti ricoverati presso un dipartimento di medicina d'emergenza entro tre ore dalla comparsa di dolore toracico, l'IMA consentì una efficace stratificazione, permettendo di identificare la presenza di ACS soprattutto in pazienti con dolore toracico acuto e riscontri elettrocardiografici normali o non diagnostici[27]. In un'indagine successiva, su pazienti sottoposti ad intervento elettivo di coronarografia percutanea, fu osservato un significativo aumento postoperatorio del marcatore, che precedeva l'aumento dei marcatori tradizionali d'infarto[13]. In analogia agli studi precedenti, Sinha e colleghi confrontarono l'efficienza diagnostica di elettrocardiogramma, troponina T ed IMA in pazienti con dolore toracico non ischemico, angina instabile ed infarto del miocardio, con o senza alterazione del tratto ST. In questa popolazione l'IMA apparve il marcatore più sensibile per la diagnosi di ischemia in pazienti con sintomatologia caratteristica per SCA, dotato di maggior sensibilità diagnostica rispetto sia all'ECG, sia alla troponina T, utilizzate da sole o in associazione[28]. L'IMA è stata recentemente proposta quale valido marcatore in grado di fornire indicazioni aggiuntive su estensione e durata del processo ischemico[29,30], osservazione confermata da un ulteriore studio in soggetti sottoposti ad angioplastica, nel quale si dimostra un maggiore incremento dell'IMA in soggetti privi di circoli collaterali coronarici[31]. La recente osservazione che soggetti con alterazioni elettrocardiografiche a seguito di cardioversione (sottoslivellamento del tratto ST e/o inversione dell'onda T) presentano livelli di IMA significativamente più elevati rispetto a soggetti senza modificazioni significative dell'ECG, conferma l'ipotesi che elevati livelli di IMA riflettono fedelmente la presenza d'ischemia miocardica transitoria[32,33].

A dispetto di una bassa specificità, non superiore al 30% (l'IMA aumenta in tutte le condizioni caratterizzate da ipossia locale o sistemica), il principale vantaggio dell'IMA nella strategia diagnostico della SCA sembrerebbe quindi risiedere nel suo elevato valore predittivo negativo[34], ed il marcatore potrebbe essere utilizzato in una strategia di screening od esclusione della SCA, in analogia all'impiego del D-dimero nella diagnosi d'esclusione del tromboembolismo venoso[35]. Nella pratica clinica, l'elevato valore predittivo negativo dell'IMA potrebbe aumentare l'efficacia diagnostica dei marcatori convenzionali di SCA, consentendo di escludere dalla diagnosi pazienti con valori inferiori alla soglia diagnostica. Per questa ragione, la misurazione dell'IMA dovrebbe sempre associarsi a quella di marcatori convenzionali di necrosi (CK-MB e troponine cardiospecifiche), il che consentirebbe di aumentare considerevolmente la sensibilità della strategia diagnostica (fino al 97%)[36]. Un ulteriore vantaggio è rappresentato dal fatto che un aumento dell'IMA, previa esclusione di altre condizioni ischemiche extra-cardiache concomitanti, consentirebbe il riconoscimento dell'ischemia cardiaca ben prima della comparsa del danno cardiaco irreversibile, promuovendo l'adozione di interventi terapeutici precoci con evidenti ricadute favorevoli nella prognosi del paziente e nel razionale impiego delle risorse[34]. Ciononostante, queste conclusioni sono stata messe in discussione da uno studio recente su pazienti ricoverati presso un dipartimento di medicina d'emergenza entro sei ore dalla comparsa di dolore toracico e senza precedenti eventi cardiaci. I risultati ottenuti dimostrano che, qualora la determinazione dell'IMA non sia preceduta da una idonea valutazione clinica "pre-test", il valore predittivo può ridursi considerevolmente[37].

In particolare, gli aspetti da tenere in maggiore considerazione sono la presenza concomitante di condizioni di natura extra-cardiaca, anche misconosciute, che possono influenzare cronicamente (neoplasie, malattie vascolari occlusive) o in acuto (attività fisica intensa, ipossia, crisi ischemiche periferica) la concentrazione del marcatore, l'influenza della concentrazione di albumina e lattato nell'interpretazione clinica del risultato, la possibilità che circa il 40% del cobalto sia legato a proteine diverse dall'albumina, la riduzione della capacità legante il cobalto dell'albumina per competizione con

altri metalli (rame, nickel) liberati durante l'ischemia, la definizione di soglie diagnostiche specifiche per il metodo automatizzato in relazione allo strumento utilizzato e l'utilizzo di unità di misura standardizzate.

Albumina Modificata dall'Ischemia nelle patologie extra-cardiache

Poiché alcuni residui aminoacidici dell'albumina reagiscono con i radicali liberi generati durante il processo di ischemia-riperfusione in un'ampia serie di condizioni ipossiche locali o sistemiche, la generazione di IMA non può essere considerata indicatore specifico d'ischemia cardiaca[14]. La determinazione dell'IMA potrebbe avere pertanto un importante significato clinico nell'evidenziare disordini più o meno gravi di natura extra-cardiaca, caratterizzati da ridotta perfusione tessutale. Infatti, aumenti significativi dell'IMA sono stati osservati in molte patologie, nelle quali sono presenti eventi ischemici correlati ad aumentato stress ossidativo. Essi comprendono la sclerodermia[38], l'attività fisica intensa[22-24], gravidanze complicate, ischemie placentari[39], preeclampsia e crisi occlusive acute in pazienti con anemia falciforme (Lippi G et al., dati in pubblicazione). Recentemente, valori molto elevati di IMA sono stati osservati anche in soggetti con neoplasie (Lippi G et al., dati in pubblicazione). Malgrado ulteriori approfondimenti siano necessari, l'IMA potrebbe quindi rappresentare un promettente test di ausilio nella diagnosi e nel follow-up di pazienti oncologici.

Conclusioni

Lo stato attuale delle conoscenze suggerisce che la misurazione dell'IMA, basata su una semplice metodica colorimetrica quantitativa automatizzata, potrebbe essere d'ausilio nelle strategie diagnostiche per la stratificazione precoce di pazienti con sospetto clinico di SCA. In associazione ai tradizionali marcatori di danno miocardico, un valore d'IMA non diagnostico avrebbe il potenziale d'escludere la presenza d'ischemia cardiaca, indirizzando il clinico verso una diagnosi alternativa o verso la dimissione rapida del paziente. La determinazione dell'IMA consentirebbe inoltre d'identificare precocemente condizioni d'ischemia localizzata o sistemica d'origine extra-cardiaca, ben prima della comparsa di danno irreversibile o necrosi, migliorando l'outcome del paziente e razionalizzando l'utilizzo delle limitate risorse a disposizione dei laboratori clinici e dei dipartimenti di medicina d'urgenza.

Accanto all'IMA, altri indicatori precoci di danno miocardico ischemico stanno emergendo, tra essi la PAPP-A (Pregnancy-associated plasma protein A)[40,41] e la Glicogeno Fosforilasi isoenzima BB[42]. Allo stato attuale sono disponibili solo dati preliminari sulla efficienza diagnostica di questi due marcatori e non è ancora disponibile una determinazione rapida ed automatizzata che ne consenta l'introduzione nell'ambito di algoritmi diagnostici e strategie decisionali.

Bibliografia

1. Monaco C, Mathur A, Martin JF. What causes acute coronary syndromes? Applying Koch's postulates. Atherosclerosis 2005; 179:1-15.
2. Foot DK, Lewis RP, Pearson TA, Beller GA. Demographics and Cardiology, 1950–2050. J Am Coll Cardiol 2000; 35:66B–80B.
3. Tunstall-Pedoe H, editor. Prepared by Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Tolonen H, Davidson M, Mendis S with 64 other contributors for The WHO MONICA Project. MONICA Monograph and Multimedia Sourcebook. Geneva: World Health Organization; 2003. ISBN 92 4 156223 4.
4. American Heart Association. 2003 Heart and Stroke Statistical Update. Dallas, Tex: American Heart Association; 2002.
5. Epidemiology of avoidable delay in the care of patients with acute myocardial infarction in Italy. A GISSI-generated study. GISSI - Avoidable Delay Study Group. Arch Intern Med 1995; 155:1481-8.
6. Panteghini M. The new definition of myocardial infarction and the impact of troponin determination on clinical practice. Int J Cardiol 2006; 106:298-30.
7. Pope JH, Selker HP. Diagnosis of acute cardiac ischemia. Emerg Med Clin North Am 2003; 21:27-59.
8. International Liaison Committee on Resuscitation. Part 5: Acute Coronary Syndromes. Resuscitation 2005; 67: 249-69.
9. Bayley MD, Schwartz JS, Shofer FS, Weiner M, Sites FD, Traber KB, et al. The financial burden of emergency department congestion and hospital crowding for chest pain patients awaiting admission. Ann Emerg Med 2005; 45:110-7.
10. Panteghini M. Acute coronary syndrome: biochemical strategies in the troponin era. Chest 2002; 122:1428-35.
11. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med 1985; 312:159-63.
12. Bar-Or D, Curtis G, Rao N, Bampos N, Lau E. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. An insight into the mechanism of a new assay for myocardial ischemia. Eur J Biochem 2001; 268:42-7.
13. Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuysen K, Harris L, Lau E, Hetzel FW. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. Am Heart J 2001; 131:985–91.
14. Lippi G, Montagnana M, Guidi GC. Albumin cobalt binding and ischemia modified albumin generation: an endogenous response to ischemia? Int J Cardiol 2006; 108:410-1.
15. Dery MA, Michaud MD, Richard DE. Hypoxia-inducible factor 1: regulation by hypoxic and non-hypoxic activators. Int J Biochem Cell Biol 2005; 37:535-40.
16. Feldser D, Agani F, Iyer NV, Pak B, Ferreira G, Semenza GL. Reciprocal positive regulation of hypoxia-inducible factor 1 and insulin-like growth factor 2. Cancer Res 1999; 59:3915-8.
17. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, et al. Cellular and developmental control of

O2 homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. Genes Dev 1998; 12:149-62.
18. Erler JT, Bennewith KL, Nicolau M, Dornhofer N, Kong C, Le QT, et al. Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis. Nature 2006; 440:1222-6.
19. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia – a preliminary report. J Emerg Med 2000; 19:311-5.
20. Lab test rules out heart attack. FDA Consum 2003; 37:3.
21. Montagnana M, Lippi G, Fava C, Minuz P, Santonastaso CL, Arosio E, et al. Ischemia-modified albumin and NT-prohormone-brain natriuretic peptide in peripheral arterial disease. Clin Chem Lab Med 2006; 44:207-12.
22. Lippi G, Brocco G, Salvagno GL, Montagnana M, Dima F, Guidi GC. High-workload endurance training may increase serum ischemia-modified albumin concentrations. Clin Chem Lab Med 2005; 43:741-4.
23. Lippi G, Montagnana M, Guidi GC. Predicting cardiac outcomes. CMAJ 2005; 173:1206-7.
24. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Schena F, Ballestrieri F, Guidi GC. Influence of physical exercise and relationship with biochemical variables of NT-pro-brain natriuretic peptide and ischemia modified albumin. Clin Chim Acta 2006; 367:175-80.
25. Wu AH. The ischemia-modified albumin biomarker for myocardial ischemia. MLO Med Lab Obs 2003; 35:36-8.
26. Christenson RH, Duh SH, Sanhai WR, Wu AH, Holtman V, Painter, et al. Characteristics of an albumin cobalt binding test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study. Clin Chem 2001; 47:464–70.
27. Roy D, Quiles J, Aldama G, Sinha M, Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, et al. Ischemia modified albumin for the assessment of patients presenting to the emergency department with acute chest pain but normal or non-diagnostic 12-lead electrocardiograms and negative cardiac troponin T. Int J Cardiol 2004; 97:297-301.
28. Sinha MK, Roy D, Gaze DC, Collinson PO, Kaski JC, et al. Role of "ischemia modified albumin", a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. Emerg Med J 2004; 21:29-34.
29. Quiles J, Roy D, Gaze D, Garrido IP, Avanzas P, Sinha M, et al. Relation of ischemia-modified albumin (IMA) levels following elective angioplasty for stable angina pectoris to duration of balloon-induced myocardial ischemia. Am J Cardiol 2003; 92:322-4.
30. Sinha MK, Gaze DC, Tippins JR, Collinson PO, Kaski JC. Ischemia modified albumin is a sensitive marker of myocardial ischemia after percutaneous coronary intervention. Circulation 2003;107:2403-5.
31. Garrido IP, Roy D, Calvino R, Vazquez-Rodriguez JM, Aldama G, Cosin-Sales J, et al. Comparison of ischemia-modified albumin levels in patients undergoing percutaneous coronary intervention for unstable angina pectoris with versus without coronary collaterals. Am J Cardiol 2004; 93:88-90.
32. Roy D, Quiles J, Sinha M, Aldama G, Gaze D, Kaski JC. Effect of direct-current cardioversion on ischemia-modified albumin levels in patients with atrial fibrillation. Am J Cardiol 2004; 93:366-8.
33. Roy D, Quiles J, Sinha M, Floros D, Gaze D, Collinson P, et al. Effect of radiofrequency catheter ablation on the biochemical marker ischemia modified albumin. Am J Cardiol 2004; 94:234-6.
34. Apple FS. Clinical and analytical review of ischemia-modified albumin measured by the albumin cobalt binding test. Adv Clin Chem 2005; 39:1-18.
35. Lippi G, Mengoni A, Manzato F. Plasma D-dimer in the diagnosis of deep vein thrombosis. JAMA 1998; 280: 1828-9.
36. Anwaruddin S, Januzzi JL Jr, Baggish AL, Lewandrowski EL, Lewandrowski KB. Ischemia-modified albumin improves the usefulness of standard cardiac biomarkers for the diagnosis of myocardial ischemia in the emergency department setting. Am J Clin Pathol 2005;123:140-5.
37. Worster A, Devereaux PJ, Heels-Ansdell D, Guyatt GH, Opie J, Mookadam F, Hill SA. Capability of ischemia-modified albumin to predict serious cardiac outcomes in the short term among patients with potential acute coronary syndrome. CMAJ 2005;172:1685-90.
38. Montagnana M, Lippi G, Volpe A, Salvagno GL, Biasi D, Caramaschi P, et al. Evaluation of cardiac laboratory markers in patients with systemic sclerosis. Clin Biochem 2006 (in press).
39. Gugliucci A, Hermo R, Monroy C, Numaguchi M, Kimura S. Ischemia-modified albumin levels in cord blood: a case-control study in uncomplicated and complicated deliveries. Clin Chim Acta 2005; 362:155-60.
40. Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR Jr, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. N Engl J Med 2001; 345:1022-9.
41. Aarsetoy H, Brugger-Andersen T, Hetland O, Grundt H, Nilsen DW. Long term influence of regular intake of high dose n-3 fatty acids on CD40-ligand, pregnancy-associated plasma protein A and matrix metalloproteinase-9 following acute myocardial infarction. Thromb Haemost 2006; 95:329-36.
42. Peetz D, Post F, Schinzel H, Schweigert R, Schollmayer C, Steinbach K, et al. Glycogen phosphorylase BB in acute coronary syndromes. Clin Chem Lab Med 2005; 43: 1351-8.
43. Panteghini M. Role and importance of biochemical markers in clinical cardiology. Eur Heart J 2004; 25:1187-96.