VI edizione corso CEFAR
"Il laboratorio nella diagnostica cardiologica"

Si è svolta a Perugia nei giorni 27 e 28 settembre 1999 la VI edizione del corso CEFAR su "Il Laboratorio nella diagnostica cardiologica". Come di consueto, il corso era suddiviso in due mezze giornate dedicate alle novità nel campo dei marcatori biochimici di rischio cardiovascolare e di danno miocardico. M. Panteghini (Brescia), responsabile scientifico del corso, ha introdotto i lavori con un breve resoconto delle cinque edizioni precedenti, delle quali le ultime tre recensite anche in questo giornale (1-3), che hanno visto aumentare negli anni sia il numero dei partecipanti che il numero delle ditte interessate all'argomento. Nella prima giornata si è parlato dei marcatori biochimici di rischio cardiovascolare e di attivazione vascolare, mentre la seconda giornata ha avuto come filo conduttore il documento sull'impiego dei "Marcatori biochimici di danno miocardico nelle sindromi coronariche acute" recentemente proposto e pubblicato dal Gruppo di Studio Interdisciplinare-Intersocietario ANMCO-SIBioC-SIMeL "Marcatori di Lesione Miocardica (GdS-MLM) (4).

A. Poli (Milano) ha presentato le evidenze scientifiche emerse dai trials di prevenzione primaria e secondaria sull'importanza della determinazione del colesterolo contenuto nelle frazioni lipoproteiche (LDL e HDL), dimostrando come la capacità di predire il rischio coronarico sia in questo modo amplificata rispetto alla determinazione del semplice contenuto lipidico totale del siero, sia in termini di colesterolemia che di trigliceridemia. Le più importanti linee guida per la prevenzione della malattia coronarica hanno dedicato sempre maggiore attenzione a questo aspetto. Il documento "Adult Treatment Panel II" del "National Cholesterol Education Program" americano, redatto nel 1994, per primo ha focalizzato l'attenzione sulle concentrazioni plasmatiche di LDL colesterolo, considerato il principale, anche se non l'unico, determinante del rischio coronarico, basando su di esso gli obiettivi per il trattamento, e su quelle del HDL colesterolo, fattore primario di protezione dalla malattia aterosclerotica (5). Il piu' recente documento europeo dell' "International Task Force for the Prevention of Coronary Heart Disease" ha fornito indicazioni sulla definizione del "rischio coronarico globale" di un soggetto che può essere calcolato mediante un algoritmo che tiene conto di un complesso di dati clinici e non solo del profilo lipoproteico (6). In questo documento viene comunque utilizzato il colesterolo LDL come obiettivo per il trattamento e, seppure orientativamente, anche la trigliceridemia. A loro volta, le linee guida per la prevenzione della malattia coronarica elaborate congiuntamente dalle Società Europee di Cardiologia, dell'Aterosclerosi, dell'Ipertensione e da altre Società Scientifiche minori, pubblicate anch'esse nel 1998, si caratterizzano per il tentativo di identificare un livello assoluto di rischio coronarico, calcolato sulla base dell'algoritmo di Framingham (7). Per quanto concerne il profilo lipidico, queste ultime linee guida identificano un obiettivo terapeutico unico per tutti i pazienti basato su colesterolo totale e/o LDL, scelta che ha destato più di una perplessità per la mancata differenziazione tra soggetti in prevenzione primaria e secondaria. La trigliceridemia e l'HDL colesterolo non sono considerati obiettivi per il trattamento, ma semplici indicatori di rischio coronarico, che devono rappresentare uno stimolo ad un trattamento più aggressivo dei fattori di rischio maggiori, trascurando tuttavia, come nel caso del HDL colesterolo, una grande quantità di evidenze scientifiche che lo indicano come fattore di importanza primaria. E' noto poi che considerare la colesterolemia totale disgiuntamente dal HDL colesterolo può portare a sottostime o sovrastime anche importanti del reale rischio coronarico di un soggetto. Le raccomandazioni per la prevenzione coronarica, prodotte congiuntamente dalla British Cardiac Society, British Hyperlipidemia Association, British Hypertension Society e British Diabetes Association, sono sostanzialmente analoghe al documento sopracitato, anche se si caratterizzano per il tentativo di includere nel grafico di definizione del rischio anche l'informazione contenuta nel HDL colesterolo (8). Pur con i limiti derivanti dall'essere basate su dati provenienti da popolazioni differenti da quella italiana, tutte le linee guida citate identificano quindi valori soglia per le frazioni lipoproteiche al fine di guidare l'intervento terapeutico per ridurre il rischio di malattia coronarica, sottolineando tuttavia l'esigenza di una valutazione globale del rischio coronarico individuale. Un importante elemento di riflessione viene, infine, da dati sperimentali che suggeriscono come la

famiglia degli inibitori dell'idrossimetilglutaril-CoA reduttasi (statine) sia dotata di effetti positivi nella prevenzione della malattia coronarica che vanno al di la' della loro capacità primaria di ridurre LDL colesterolo, dovuti probabilmente ad un effetto vascolare diretto. Qualora questi dati venissero confermati, le linee guida dovrebbero essere probabilmente riviste nei loro aspetti terapeutici anteponendo agli altri strumenti non farmacologici ipocolesterolemizzanti l'uso di questi farmaci.

La relazione di M.S. Graziani (Verona) ha affrontato il problema del valore della determinazione dei trigliceridi plasmatici. Nonostante il comitato "Nuovi Fattori di Rischio Cardiovascolare" della Fondazione Italiana per il Cuore abbia inserito i trigliceridi tra i principali fattori di rischio cardiovascolare, il "Consensus Development Panel on Triglycerides" del "National Insitute of Health" ha tuttavia affermato che i dati relativi ai trigliceridi sono confondenti (9). Sebbene esista in alcuni studi una chiara associazione tra trigliceridi e rischio cardiovascolare, l'evidenza per una relazione causale con la cardiopatia ischemica è infatti ancora incompleta. L'analisi univariata degli studi epidemiologici presenti in letteratura ha dimostrato una correlazione tra trigliceridi e malattia coronarica, mentre al contrario questa non è stata dimostrata mediante l'analisi multivariata con gli altri fattori di rischio a causa dell'ampia variabilità intra- ed interindividuale dei trigliceridi e della loro stretta correlazione metabolica con l'HDL colesterolo. Una meta-analisi di studi prospettici di popolazione ha tuttavia dimostrato che la concentrazione dei trigliceridi plasmatici è un fattore di rischio indipendente dal HDL colesterolo (10). Studi di intervento con bezafibrato hanno inoltre dimostrato l'utilità di ridurre la concentrazione dei trigliceridi nel sangue. Tuttavia, e' indubbio che considerare il valore assoluto dei trigliceridi, che sono presenti in quasi tutte le lipoproteine, può mascherare la complessità del processo metabolico che li vede coinvolti. Un'ipertrigliceridemia, infatti, può essere significativa di ipoalfalipoproteinemia, di aumento dei "remnants" delle VLDL, di aumento delle LDL piccole e dense o di iperlipemia post-prandiale oltre che di alterazioni del sistema coagulativo e fibrinolitico, tutti fenomeni conosciuti come causa di aterosclerosi. La relatrice ha concluso fornendo indicazioni sulle strategie operative da adottare nei singoli pazienti, suggerendo l'esecuzione di trigliceridi, LDL colesterolo e HDL colesterolo per uno screening dei pazienti, limitando la possibile valutazione della dimensione delle LDL e della trigliceridemia post-prandiale solo in casi selezionati.

L. Biasucci (Roma) ha trattato il ruolo dei marcatori di infiammazione e delle molecole di adesione nella sindrome coronarica acuta (ACS). La classica teoria patogenetica delle ACS secondo cui la rottura della placca e la conseguente formazione del trombo intracoronarico ne rappresentano il substrato anatomo-patologico, è stata negli ultimi anni riconsiderata criticamente alla luce di ulteriori dati anatomo-patologici e clinici. Appare oggi più probabile che il substrato della ACS ed, in particolare, dell'angina instabile sia rappresentato dal più complesso processo dell'attivazione dell'endotelio che solo in alcuni casi si conclude con la rottura della placca. Le modificazioni delle proprietà antiadesive e antitrombotiche dell'endotelio non sono esclusivamente secondarie all'azione di stimoli meccanici che danneggiano l'endotelio, ma possono essere indotte da numerose citochine proinfiammatorie, quali l'interleuchina-1, l'interleuchina-6 e il tumor necrosis factor-α, e da sostanze procoagulanti ("tissue factor") e da enzimi (metalloproteasi) prodotti da cellule infiammatorie presenti all'interno della placca. Molti autori hanno studiato negli ultimi anni questi marcatori di attivazione nei pazienti con ACS, ma la loro misurazione risulta ancora relativamente complessa. L'interesse si è quindi spostato su un marcatore di infiammazione già impiegato routinariamente, di facile, economica e riproducibile determinazione: la proteina C-reattiva (PCR), una delle classiche proteine della fase acuta, sintetizzata dagli epatociti e indotta dalle citochine in tutte le condizioni che possono determinare un danno tissutale. Numerosi studi ne hanno dimostrato la validità dal punto di vista prognostico nei pazienti con ACS. Anche il riscontro di elevati livelli circolanti delle forme solubili delle molecole di adesione rappresenta un efficace marcatore di uno stato di attivazione dell'endotelio. Particolare attenzione è stata posta nei confronti delle selettine, delle molecole di adesione intercellulare (ICAM)-1 e -2 e della molecola di adesione cellulare vascolare (VCAM)-1. Nonostante il loro interesse concettuale, per la difficoltà ed il costo delle determinazioni, tali molecole non sembrano al momento pero' rivestire un interesse pratico.

L. Oltrona (Milano) ha successivamente presentato i dati di uno studio multicentrico, lo studio EMAI ("Early prognostic value of biochemical markers of myocardial damage, activation of hemostatic mechanism and inflammation in acute ischemic syndromes") condotto sotto l'egida dell'ANMCO in 31 Unita' di Cura Coronarica italiane. Scopo principale dello studio e' stato quello di paragonare l'efficacia prognostica dei nuovi marcatori biochimici di danno e trombosi e verificare se l'informazione ottenuta da essi possa e debba essere considerata aggiuntivamente ai dati clinici ed elettrocardiografici. A tale scopo sono stati determinati su 2000 pazienti al momento del ricovero: le due troponine cardiache (cTnI e cTnT), i "crosslinked fibrin(ogen) degradation products" (XL-FDP) e il frammento protrombinico 1.2 (F1.2) e la PCR. L' "end point" primario era rappresentato dalla morte per cause cardiache e dall'infarto miocardico (IMA) a 30 giorni di "follow-up". I dati preliminari hanno rivelato una migliore efficacia prognostica per cTnI e XL-FDP.

La prima giornata del corso si è conclusa con l'assemblea aperta del GdS-MLM durante la quale Panteghini ha riassunto le attività svolte dal gruppo nell'ultimo anno, M. Zaninotto (Padova) ha illustrato i risultati del Controllo Esterno di Qualità per i marcatori cardiaci relativi al primo semestre del 1999, iniziativa promossa dal GdS-MLM stesso alla quale hanno finora aderito 60 laboratori nazionali, e M. Galvani (Forlì) ha infine descritto l'indagine informativa sui criteri di diagnosi biochimica di IMA utilizzati nella pratica clinica che si sta conducendo nelle varie realtà ospedaliere italiane.

La seconda giornata, dedicata ai marcatori di danno miocardico, è iniziata con una relazione dello stesso Galvani su "Criteri diagnostici per l'IMA: proposte per un superamento dei criteri OMS". La constatazione che i "nuovi" marcatori biochimici di danno miocardico (principalmente le troponine) individuano la presenza di danno miocardico in un terzo circa dei pazienti con ACS in cui l'IMA è stato escluso con la determinazione degli enzimi tradizionali ha aperto il problema della ridefinizione dei criteri attuali di diagnosi di IMA. La domanda fondamentale è sostanzialmente se le troponine possono sostituire la CK-MB per questa diagnosi. E' chiaro che l'utilizzo delle troponine, più cardiospecifiche e più sensibili, porterebbe sicuramente ad un aumento del numero delle diagnosi di IMA con significative ripercussioni su numerosi importanti aspetti di politica sanitaria ed è quindi comprensibile l'atteggiamento di cautela del mondo scientifico nella decisione di cambiare immediatamente i criteri diagnostici per l'impossibilità di adeguare rapidamente il sistema sanitario all'aumento del numero delle diagnosi di IMA.

M. Plebani (Padova), illustrando la tipologia dei marcatori e il protocollo operativo suggerito, ha sottolineato la necessità che il laboratorio risponda a due impellenti esigenze nel corso di questa particolare situazione clinica: la precocità dell'informazione fornita e la sua cardiospecificità, cosa ottenibile accoppiando mioglobina e troponina (4). Questi marcatori devono sostituire la determinazione della CK-MB, che notoriamente risente dei problemi legati alla sua carente cardiospecificità e alla sua scarsa rilevanza prognostica. Questo marcatore "tradizionale" mantiene tuttavia ancora alcuni vantaggi perché più standardizzato ma soprattutto perche' i medici, conoscendolo bene, sono più confidenti nell'interpretarne i risultati. Le questioni che rimangono aperte nel campo dei nuovi marcatori sono la mancanza di standardizzazione, non solo nella sua accezione analitica ma intesa anche come armonizzazione clinica, e la possibile decentralizzazione dell'esecuzione dei test. Il relatore ha invitato, in quest'ultimo caso, ad utilizzare dei test quantitativi, in quanto quelli qualitativi non possono dare informazioni prognostiche, sottolineando inoltre l'importanza del controllo di qualità di questi sistemi.

Il problema dei livelli decisionali per l'impiego ottimale dei marcatori e' stato illustrato da Panteghini. Le raccomandazioni contenute nel documento del GdS-MLM precedentemente citato suggeriscono l'utilizzo di due livelli decisionali, necessari per identificare una popolazione di pazienti con danno miocardico (livello decisionale più basso) ed una con IMA (livello decisionale più elevato) (4). Questi due livelli sono tuttavia metodo-dipendenti; non sono quindi paragonabili tra un metodo e l'altro e devono essere ottenuti con specifici approcci metodologici: il primo con la valutazione del 97.5° percentile dei risultati ottenuti su una popolazione di soggetti apparentemente sani; il secondo con l'analisi delle curve ROC confrontando una popolazione con IMA diagnosticato con i criteri OMS con un gruppo di pazienti con ACS ma senza IMA-OMS. Il relatore ha tuttavia sottolineato l'importanza di raggiungere alla fine un accordo sulla necessità di stabilire un unico livello decisionale, dettata dall'evidenza che anche i pazienti con danno miocardico ma senza IMA presentano comunque un rischio coronarico elevato sia a breve che a medio termine. Da questa riflessione deriva indirettamenteanche la raccomandazione di non utilizzare più il termine "minimo" quando ci si riferisce al danno miocardico messo in evidenza dall'aumento delle troponine nel plasma.

E. Toffalori (Trento) ha presentato i risultati dell'esperienza di un gruppo di lavoro multidisciplinare, formato da laboratoristi, cardiologi, medici di Pronto Soccorso ed un cardiochirurgo, costituitosi all'ospedale di Trento con l'obiettivo di inserire nella pratica quotidiana della valutazione dei pazienti con dolore toracico le determinazioni dei marcatori cardiaci, mioglobina, cTnI e CK-MB in concentrazione di massa, a sostituzione dei vecchi marcatori in uso (CK totale, CK-MB in attività e lattato deidrogenasi). A conclusione della sperimentazione, questo gruppo di lavoro ha elaborato una proposta di linee guida interne sull'impiego di tali marcatori cardiaci, identificando la tipologia dei marcatori da utilizzare (mioglobina e cTnI) e lo schema temporale di esecuzione, adottando a tale proposito i suggerimenti del documento del GdS-MLM (prelievi al tempo di ricovero, dopo 4, 8 e 12 ore) (4). Un'importante fase del lavoro è stata rappresentata dall'aggiornamento del personale sanitario sulla corretta richiesta ed interpretazione clinica con la diffusione delle informazioni tramite una giornata d'incontro sulla diagnostica del dolore toracico e la stesura di un documento esplicativo sul ruolo dei marcatori biochimici nella diagnostica di IMA.

Nella relazione "Monitoraggio e stima dell'area infartuata: un ruolo residuo per i classici marcatori enzimatici?", F. Ottani (Bologna) ha presentato i dati della letteratura che, in epoca pretrombolitica, dimostravano inconfutabilmente come l'area infartuata ricavata da calcoli matematici sui valori biochimici enzimatici ben correlasse con la stima istologica post-mor-

tem dell'area stessa. Anche in pazienti sottoposti a trombolisi gli enzimi tradizionali sembrano mantenere la loro validità se paragonati alle procedure alternative, poco affidabili come l'ecografia o costose e non sempre disponibili come l'angiografia e l'indagine con radionuclidi. Per quanto riguarda in particolare i nuovi marcatori, il relatore ha sottolineato la scarsita' dei dati disponibili, concludendo che non esistono ancora lavori di validazione definitiva.

Il più volte citato documento del GdS-MLM fornisce suggerimenti anche in merito all'utilizzo dei marcatori cardiaci nel monitoraggio della riperfusione coronarica, argomento ripreso nella relazione di M. Tubaro (Roma). La terapia trombolitica per via sistemica rappresenta una pietra miliare nel trattamento dell'IMA; pur con i suoi effetti benefici, tuttavia, questa terapia è lontana dall'offrire risultati ottimali, con una quota importante di pazienti che presentano un grado insufficiente di riperfusione coronarica. E' quindi importante riconoscere precocemente il possibile fallimento della trombolisi per mettere eventualmente in atto ulteriori strategie di riperfusione. Studi recenti hanno dimostrato che per verificare in maniera ottimale l'efficacia del trattamento trombolitico andrebbero considerati, in combinazione con segni clinici ed elettrocardiografici, i valori di due determinazioni di un marcatore cardiaco a rilascio precoce, quale la mioglobina, ottenute su campioni di sangue prelevati uno appena prima dell'inizio della procedura trombolitica ed uno 90 minuti più tardi. Il relatore ha posto l'accento sull'importanza di una risposta biochimica molto rapida ed ha sottolineato la reale utilità della valutazione biochimica solo in quelle strutture ospedaliere in cui vengano eseguiti interventi alternativi di "salvataggio" ("rescue angioplasty") in caso di mancata riperfusione dopo trombolisi.

Il tempo di risposta biochimica ("turnaround time", TAT) puo' condizionare pesantemente l'efficacia diagnostica dei marcatori biochimici, come ha precisato A. Dolci (Milano) nella sua relazione. Il laboratorio dovrebbe porsi come obiettivo un TAT non superiore ad un'ora per ottimizzare la gestione del paziente in presenza di IMA (precoce intervento terapeutico), ma anche in caso di assenza di danno miocardico (riduzione della degenza e quindi dei costi). Delle tre fasi che costituiscono il TAT complessivo, preanalitica, analitica e di refertazione, quella più critica è senz'altro la fase preanalitica, che ancora oggi presenta problemi non solo in termini di tempi, ma anche in termini di possibilita' di influenzare significativamente l'accuratezza del risultato. Il campione ideale è rappresentato dal plasma o dal sangue intero anticoagulato, anche se particolare attenzione deve essere posta nella verifica dei risultati in rapporto al metodo di determinazione e al tipo di anticoagulante utilizzato. Laddove non sia possibile ottenere un TAT pari ad un'ora deve essere presa in considerazione la possibilità di utilizzare i test rapidi da eseguire al letto del malato ("bedside"), tenendo tuttavia sempre in debita considerazione il rapporto costo/beneficio ed i possibili limiti di queste nuove metodologie.

L'ultimo argomento del corso è stato affrontato da Zaninotto nella relazione "Metodologie di determinazione dei marcatori: stato dell'arte e obiettivi di miglioramento". Per quanto riguarda mioglobina, CK-MB massa e cTnI al momento attuale non si è ancora raggiunta una standardizzazione dei metodi commercializzati e, tranne che per CK-MB, non esistono nemmeno materiali di riferimento, problemi alla cui risoluzione si sta comunque lavorando a livello internazionale. In conseguenza di ciò i risultati ottenuti sui pazienti con metodi diversi per lo stesso marcatore differiscono anche marcatamente, rendendo impossibile la comparazione dei dati e rallentando sensibilmente il progredire delle conoscenza fisiopatologiche nell'ambito dei complessi fenomeni che stanno alla base delle ACS. Un importante problema analitico, quale l'imprecisione, è stato invece affrontato, suggerendo che la massima imprecisione accettabile sia dipendente dalla variabilità biologica dell'analita stesso. Allo stato attuale, sono conosciute le variabilità biologiche di mioglobina e CK-MB e su di esse sono stati stabiliti gli obiettivi di imprecisione per questi due marcatori (CV $\leq$ 5.6% per la mioglobina e $\leq$ 9.2% per la CK-MB). Relativamente alle troponine il CV accettabile è stato arbitrariamente stabilito come $\leq$10%.

Complessivamente il corso ha visto un'ampia partecipazione di Laboratoristi e Cardiologi che, con molto equilibrio, hanno rappresentato le due figure professionali e quindi i due aspetti di questa complessa problematica, stimolando un vivace dibattito e contribuendo ad evidenziare ulteriormente la fondamentale necessità di una stretta cooperazione al fine di una ottimizzazione della gestione del paziente e delle risorse sanitarie. Il prossimo appuntamento per ulteriormente stimolare questa discussione e' gia' fissato nel giugno del 2000 a Bari.

F. Pagani
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche 1
Azienda Ospedaliera 'Spedali Civili' di Brescia

Bibliografia

1. Pergolini P. III edizione Corso CEFAR "Il laboratorio nella diagnostica cardiologica". Med Lab 1997;5:87-8.
2. Pergolini P. IV edizione Corso CEFAR "Il laboratorio nella diagnostica cardiologica". Med Lab 1998;6:229-32.
3. Bonetti G. Quinta edizione corso CEFAR "Il laboratorio nella diagnostica cardiologica". Med Lab 1999;7:97-102.
4. Panteghini M, Dolci A, Galvani M, Ottani F, Tubaro M, Zaninotto M, et al. Marcatori biochimici di danno

miocardico nelle sindromi coronariche acute. Premesse e suggerimenti per l'ottimizzazione del loro impiego nella pratica clinica. Med Lab 1998;6:288-93.
5. National Cholesterol Education Program. Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). Circulation 1994;89:1329-445.
6. The International Task Force for the Prevention of Coronary Heart Disease. Coronary Heart Disease: reducing the risk. Nutr Metab Cardiovasc Dis 1998;8:205-71.
7. Second joint task force of European and other Societies on Coronary Prevention. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Eur Heart J 1998;19:1434-503.
8. British Cardiac Society, British Hyperlipidemia Association, British Hypertension Society, endorsed by the British Diabetes Association: Joint British recommendations on prevention of coronary heart disease in clinical practice. Heart 1998;80(suppl2):S1-29.
9. NIH Consensus Development Panel on Triglycerides, High Density Lipoprotein and Coronary Artery Disease. JAMA 1993;269:505-10.
10. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglycerides level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. J Cardiovasc Risk 1996;3:213-9.