Marqueurs biologiques de la fonction cardiovasculaire :

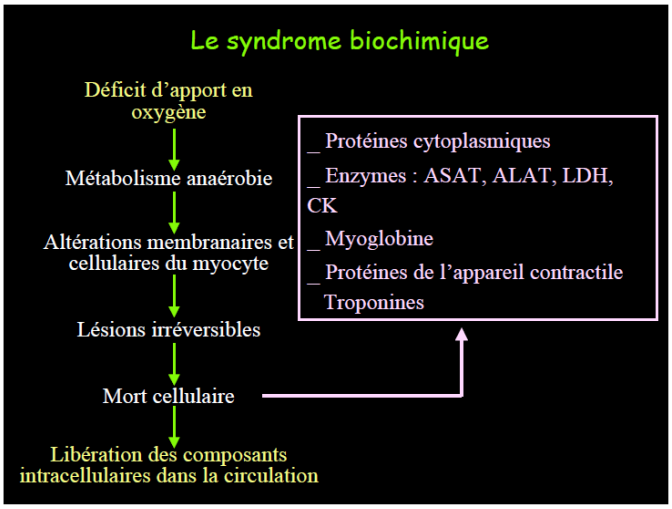
Il y a deux grandes pathologies où les marqueurs cardiaques ont un intérêt : Les cardiopathies ischémiques et l'insuffisance cardiaque.

I. Cardiopathies ischémiques :

A. Les cardiopathies ischémique:

Ce sont des maladies lentes avec des alternances de phases stables et instables causé principalement par la rupture de plaque d'athérome peu sténosante. A partir de cette rupture, il y a la formation d'embolies distales ou, au niveau local, de thrombus qui provoque une diminution des apports en oxygène et en substrat au niveau du myocarde. Si ce thrombus est non occlusif on a un angor instable ; si elle est occlusive on a un infarctus du myocarde.

Dès qu'il va y avoir des atteintes au niveau du myocarde cela va induire un syndrome biochimique.



B. Marqueurs biologiques :

Les marqueurs biologiques vont permettre de faire un diagnostic, d'évaluer le pronostique, d'évaluer l'efficacité du traitement, et le risque de récidive. Le marqueur idéal devrait être cardio-spécifique, sensible, et dont le dosage serait rapide et simple. Mais aucun marqueur regroupe toutes ces caractéristiques, on va utiliser plusieurs tests. Les marqueurs utilisés de nos jours sont la myoglobine, la troponine et l'isoenzyme CK-MB. Il y a apparition des marqueurs dans la circulation en fonction de leur masse moléculaire, leur localisation et leur concentration cellulaire.

1. La myoglobine:

La myoglobine est une hétéroprotéine de faible PM qu'on retrouve dans la cellule musculaire squelettique et myocardique. Son élimination est exclusivement rénale. Valeur normal : 6 - 80 µg/l.

-Intérêt de la myoglobine: le plus précoce, une demi-vie courte (1-3h) qui permet de porter le diagnostic de récidives précoces, si absence de son augmentation → exclusion du diagnostic d'IDM.

-Inconvénients: non cardiospécifique et augmente en cas d'atteintes musculaires, péricardites, troubles du rythme, et insuffisance rénale.

Interprétation :

Au cours de l'IDM: élévation entre 2 et 3h, pic entre 8 et 21h, retour à la normale entre 24 et 36h

Seuil décisionnel :

- si < 50 µg/l à la 3ème heure: exclusion d'IDM (98%)

- si > 90 µg/l : probabilité d'IDM

- si >130 µg/l : prédit l'IDM avec une bonne sensibilité

Suivi de la thrombolyse: Pic 1-2h après désobstruction

Méthode de dosage:

- **L'immunoturbidimétriques** et l'**immunonéphélométriques** : on met en contact le prélèvement avec des particules revêtues d'Ac antimyoglobine → formation de complexe immun myoglobine-antimyoglobine. Pour l'immunoturbidimétrie on mesure l'absorption d'un faisceau lumineux par les complexes immuns, et pour l'immunonéphélométrie on mesure l'intensité de la lumière diffusée par les complexes immuns. Ces techniques sont rapides, adaptées à l'urgence, avec un domaine de mesure étendu (de 50 à 600 µg/l), mais il existe des interférences notamment avec les prélèvements hyperlipémies et avec les facteurs rhumatoïdes.

- Une méthode immunoenzymologique fondé sur le **principe ELISA de type sandwich** : on met en contact le sérum du patient avec des réactifs qui vont contenir 2 Ac différents se fixant à la myoglobine, dont l'un est marqué par une enzyme capable d'hydrolyser un substrat fluorescent (fluorescence proportionnelle à la quantité de myoglobine). C'est une technique plus sensible, rapide et dont le domaine de mesure est plus étendu de 1 à 1000 µg/l.

2. *Complexes troponines:*

C'est un complexe composé de 3 protéines non enzymatiques appartenant au myocarde, il est commun à tous les muscles striés mais absent du muscle lisse. Ces 3 protéines sont la troponine T, C et I. Elles les retrouvent dans la circulation générale en cas de lyse cellulaire.

- Dans le cardiomyocyte, il existe 2 pools de troponines :

- Un pool de troponines libres dans le cytosol (8%) qui lors d'une lésion du myocyte sera libérer en premier dans le sang.

- un pool associé au système contractile (92%) qui constitue un complexe ternaire (TnC-TnI-TnT).Celui-ci, lors d'une lésion du myocyte est libéré plus tardivement et va d'abord se décomplexer avant d'atteindre la circulation plasmatique.

- Il existe un isoforme cardiospécifique pour la troponine T et la troponine I mais il n'y a pas d'isoforme cardiospécifique pour la troponine C.

Intérêts : leur cardiospécificité (TnT, TnI), leurs concentrations élevées dans la circulation plasmatique, l'absence de troponine dans la circulation chez le sujet sain, une cinétique d'apparition rapide qui reste élevée pendant 10 jours en moyenne permettant de faire un **diagnostic rétrospectif.**

Inconvénient : Les TnIc et TnTc sont **spécifiques du myocardes mais non de l'infarctus**.

Interprétation :

Au cours de l'IDM: élévation entre 3 et 6h, pic entre 18 et 24h, retour à la normale entre 5 et 10j. La durée d'élévation de la troponine est proportionnelle à la taille de l'IDM. La troponine permet de faire un diagnostic précoce et rétrospectif.

Seuils décisionnels:

-Chez un sujet sain → pas de troponine dans le sang

-Entre 0 et 0,1 ng/ml on parle d'intervalle de référence que l'on peut diviser en 2 parties: une partie entre 0 et 0,06 ng/ml → zone normale, et une partie entre 0,06 et 0,1 ng/ml → «zone grise» (début d'augmentation nécessitant un nouveau contrôle dans les heures qui suivent).

-Entre 0,1 et 0,5 ng/ml ⟶ dommages myocardiques

-Supérieure à 0,5 ng/ml →un IDM

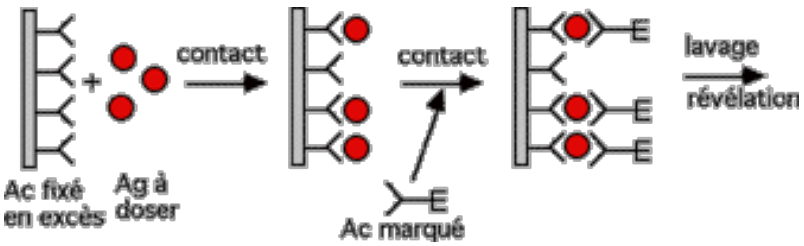
Méthodes de dosages:

- **Pré analytique**:

Le prélèvement est réalisé en présence d'anticoagulant (EDTA, Héparine de lithium) car on aurait des faux positifs causé par des résidus de fibrines qui miment la troponine.

- **Analytique**:

Utilisation de technique d'immunodosage type «sandwich» : on met en contact le prélèvement avec 2 Ac différents dont un **Ac de capture** qui se lie à la troponine et un **Ac de révélation** qui se lie également et émet un signal proportionnel à la quantité de troponine.



Les causes d'inexactitude de ce dosage sont la fibrine, les Ac (hétérophile ou rhumatoïde), les insuffisants rénaux ou certaines atteintes cutanées et musculaires (dermatomyosite, polymyosite).Ces faux positifs (<1%) sont corrigé en associant la clinique, la biologie et en répétant les dosages.

- **Post analytique**

Pour l'interprétation → difficultés d'effectuer des comparaisons entre les différents laboratoires du fait d'une grande hétérogénéité **(**différentes trousses de dosage, des seuils décisionnels différents…)

Troponine T ultrasensible:

C'est un nouveau marqueur. Même molécule dosée mais avec une amélioration de la sensibilité du dosage, en utilisant d'autres Ac plus spécifiques permettant détecter des taux de troponine plus faibles.
L'inconvénient : on ne sait pas bien comment interpréter ces taux qui sont très bas. L'intérêt : faire un diagnostic plus précoce et détecter certaines micro-nécroses cardiaques

3. La créatine kinase et isoenzymes

La créatine kinase a un rôle dans la contraction musculaire et est présente dans les muscles squelettique et cardiaque. Après lyse cellulaire, cette enzyme passe dans le sang. Valeur normale : 30 - 200 UI/L.

Il existe 3 isoenzyme de la CK qui ont chacun une localisation tissulaire spécifique:
-La **CK MM** → muscle squelettique et le cœur
-La **CK MB** → muscle cardiaque
-La **CK BB** → cerveau

Dans le sang physiologiquement on retrouve la fraction MM (95%), la fraction MB (5%) mais absence de la fraction BB (sauf si lésion cérébrales).Si on dose la CK MB il peut y avoir des interférences causé par ces macro CK qui miment la CK MB.

Interprétation :

Variations physiologiques de l'activité CK en fonction de la masse musculaire, l'âge et du sexe du patient (H>F), et augmente avec l'exercice physique.

Au cours de l'IDM : élévation entre 4 et 6h, pic entre 18 et 22h, retour à la normale entre 60 et 72h

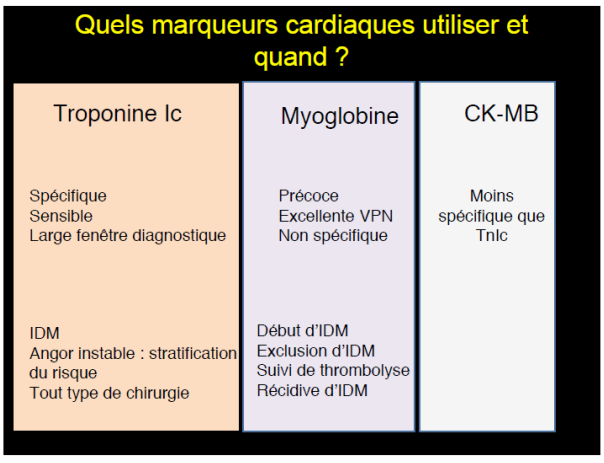
Ces élévations du taux de CK sanguins sont peu spécifiques de l'IDM, on peut les retrouver en cas de rhabdomyolise ou d'atteintes musculaires inflammatoire.

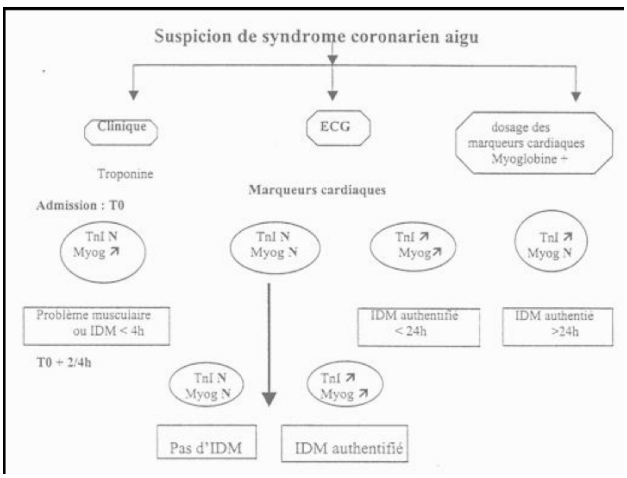
Méthodes analytiques:

- On dose la CK totale donc on mesure une activité enzymatique. Pour doser la CK MB on va utiliser des méthodes par **immunoinhibition** : inhibition de la sous unité M avec un Ac spécifique, mesure l'activité résiduelle de la SU B multiplié par 2. C'est une technique très peu sensible avec de nombreuses interférences (des faux positifs avec les macros CK et les CK BB ainsi que des interférences par hémolyse).

- La **CK «masse»** → dosage de la CK MB protéine (donc non son activité enzymatique).C' est une méthode immunométrique : utilisation de 2 Ac monoclonaux dirigés contre 2 épitopes différents de la CK MB avec un de ces Ac marqué par une enzyme ou un fluorophore permettant la quantification. C'est une technique rapide, automatisé, sensible et spécifique, sans interférence avec les CK MM, CK BB et macro CK.

4. Synthèse:





Pour effectuer un diagnostic d'IDM, on utilise un marqueur précoce (myoglobine) et un marqueur plus tardif (TnIc).La Troponine est le marqueur préféré pour le diagnostic d'IDM (cardiospécifique). Les différents dosages doivent être répétés, réalisés à l'admission entre 6h et 9h puis entre 12h et 24h.

II. Insuffisance cardiaque :

A. Insuffisance cardiaque :

L'IC est en général due à une lésion myocardique une hypertrophie du myocarde et donc une hypocontractilité qui va diminuer la capacité d'éjection du VG, ceci va être la cause d'une diminution du débit sanguin qui va être perçu par des récepteurs périphériques qui vont provoquer une vasoconstriction périphérique et une rétention hydrosodée. Parallèlement se met en place un phénomène de contre régulation pour palier à cette vasoconstriction et ces rétentions hydrosodées, il va y avoir l'activation des peptides natriurétiques (ANP-BNP) qui vont avoir pour rôle d'inhiber la libération de noradrénaline et le système rénine-angiotensine. C'est ces peptides, notamment BNP, que l'on va doser au niveau plasmatique et qui vont être marqueurs de l'IC.

B. Marqueurs biologiques de l'IC:

Il existe 3 peptides natriurétiques: BNP, CNP et ANP (Mais c'est le BNP qui sera principalement utilisé dans l'IC)

Le BNP est un peptide synthétisé en excès par les ventricules en cas d'IC, sa demi-vie est de 20 min, et il existe une grande hétérogénéité des formes circulantes.

Ce BNP va être synthétisée en réponse à une dilatation des ventricules, il provient d'un précurseur qu'on appelle pré-pro-BNP qui va être scindé en 2 molécules, pro-BNP et un petit peptide qui va être éliminé, et ce pro-BNP va subir un clivage en BNP et la partie Nterm que l'on appelle NTpro-BNP. Ces 2 molécules seront retrouvées dans la circulation générale.

Intérêts :

- Diagnostic étiologiques des dyspnées: qui sont cardiaque ou pulmonaires et donc l'augmentation du BNP sera un marqueur d'une dyspnée cardiaque (VNP ++)

- Evaluation du pronostic: élévation du BNP proportionnel à la sévérité de l'IC, et permet le suivi post IDM

- Suivi thérapeutique: évaluation de l'efficacité du traitement de l'IC

Méthodes de dosage:

- Pré analytique:

  Le prélèvement est réalisé sur anticoagulants (EDTA), et peut être conservé jusqu'à 4h à 4°C et jusqu'à 1 mois a -20°C.

- Analytique: technique immunométrique de type sandwich.

Il existe différentes trousses de dosages composés d'Ac différents pour doser ces BNP:

- 2 Ac qui reconnaissent la boucle et la partie Cterm de BNP

- Plusieurs Ac qui reconnaissent plusieurs épitopes au niveau de la boucle et au niveau des ponts disulfures

- 2 Ac qui reconnaissent les ponts disulfures et l'extrémité Cterm

Un des risques est de dosé le proBNP aussi qui a une structure analogue, c'est pourquoi il est importants de réaliser le dosage chez un même patient dans le même laboratoire (qui ont des trousses de dosages différentes).