

La Lettre

LES MARQUEURS CARDIAQUES

Isabelle CUVELIER
Pharmacien Biologiste
Spécialiste du Métabolisme
Laboratoire Pasteur Cerba

Il existe à l'heure actuelle de nombreux marqueurs de la souffrance cardiaque permettant un diagnostic rapide et le plus souvent une datation de l'atteinte.

On les classe en deux catégories :

- les marqueurs d'une atteinte aiguë (infarctus du myocarde (IDM) et angor)

- les marqueurs d'une atteinte chronique (dysfonctionnements ventriculaires et insuffisance cardiaque)

INTRODUCTION

Un " bon " marqueur cardiaque est un paramètre biologique, mesurable dans le sang qui présente les caractéristiques suivantes :

■ Une bonne **spécificité** :

Il doit être présent dans le tissu myocardique à l'exclusion de tout autre tissu et se présenter en très faible quantité voire être absent des milieux biologiques du sujet sain.

■ Une bonne **sensibilité** :

Il doit être présent à taux significatif et suffisant pour être mesurable dans les tissus après lésions. La libération du myocarde dans la circulation doit être rapide afin de pouvoir être utilisée comme outil de diagnostic précoce cependant elle doit se poursuivre suffisamment longtemps pour orienter un diagnostic plus tardif.

Par ailleurs, ce marqueur doit présenter certaines caractéristiques analytiques :

■ être facilement mesurable par une technique rapide d'application,

■ fiable et peu coûteux,

■ facile à mettre en œuvre, parfois même au lit du malade.

Les processus utilisés doivent permettre l'obtention d'un résultat rapide avec une précision et une exactitude suffisante pour conclure ou exclure la pathologie.

Enfin le marqueur cardiaque doit présenter des caractéristiques cliniques permettant de l'utiliser en diagnostic mais aussi de lui conférer des critères thérapeutiques et des critères pronostics.

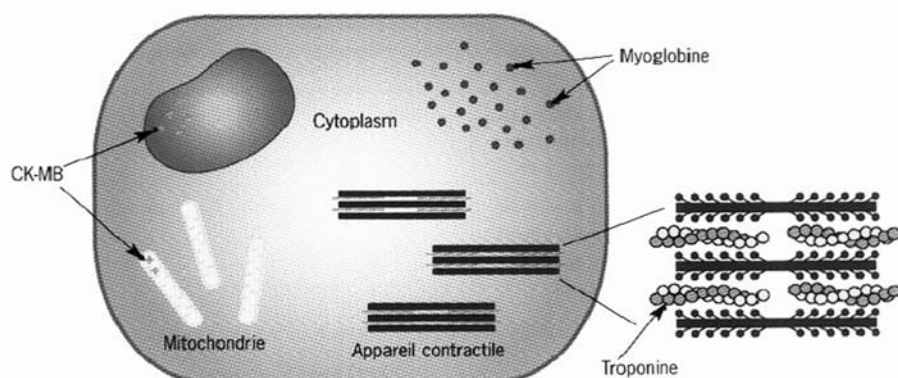
LES MARQUEURS DE L'ATTEINTE AIGUË

Les principaux marqueurs de l'atteinte aiguë sont au nombre de trois :

- myoglobine
- CK-MB
- troponine

Leur taille et leur localisation subcellulaire permettent d'expliquer leur cinétique d'apparition dans les milieux biologiques.

CELLULE DU MUSCLE CARDIAQUE



La taille et la répartition subcellulaire de la protéine ou de l'enzyme déterminent la rapidité avec laquelle un biomarqueur apparaît dans la circulation générale.

Myoglobine

C'est une petite molécule protéique localisée dans le cytoplasme de toute cellule musculaire, cardiaque ou du muscle strié. Il s'agit de la protéine de l'hème qui lie l'oxygène avec une affinité supérieure à celle de l'hémoglobine.

Elle joue un rôle essentiel dans le transport de l'oxygène aux mitochondries permettant la production d'ATP (adénosine triphosphate) et le travail musculaire.

Son catabolisme se situe en grande partie au niveau intramusculaire sous l'action d'enzymes protéolytiques et son élimination est urinaire.

Présente dans toutes les cellules musculaires, elle n'est pas spécifique du myocarde. Le renouvellement musculaire normal fait que la myoglobine est toujours détectable dans le sérum à des taux dépendant de la technique utilisée.

Au niveau urinaire, les concentrations de myoglobine sont extrêmement basses : de 0 à 4 mg/l souvent inférieures au seuil de détection de la technique. De plus, dans ce milieu, la myoglobine non entourée de protéines est très instable. Pour être fiable, le dosage doit être effectué dans les trois heures suivant le prélèvement.

Cependant, effectuée dans les règles, cette analyse peut être importante pour la détermination du risque d'insuffisance rénale aiguë, complication importante d'une myoglobulinurie massive.

L'augmentation de la myoglobine est retrouvée dans toute souffrance musculaire (effort intense, atteintes musculaires toxiques ou non, dégénérescence héréditaire...). Cependant sa faible taille et sa disponibilité au sein de la cellule entraînent sa libération rapide dans la circulation après lésion. Ce paramètre est donc le plus précoce pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde.

Au seuil de 70 ng/ml (technique néphélométrique), la myoglobine présente les caractéristiques suivantes : sensibilité 83,3 %, spécificité 95,5 %, valeur prédictive positive 93 %, valeur prédictive négative 88,7 %.

CPK fraction MB

La créatine phosphokinase (CPK) est une enzyme à double localisation cellulaire (cytosolique et mitochondriale) qui catalyse de façon réversible le transfert d'un résidu phosphate entre l'ATP et la créatine.

Il s'agit d'un dimère constitué de deux sous-unités à activité catalytique indépendante.

Ces sous-unités sont de deux types : M (pour muscle) et B (pour brain). Leur association permet de constituer les trois isoenzymes de la CK : CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2), CK-MM (CK-3) dont les proportions relatives dans la cellule dépendent de l'origine tissulaire. Le cerveau contient exclusivement la forme BB qui est également fortement représentée dans les organes du tractus gastro-intestinal et dans les organes parenchymateux (utérus, prostate, rein, foie...).

C'est au niveau cardiaque que l'on rencontre la plus forte proportion de MB.

Dans le sérum à l'état physiologique, on ne détecte que la forme MM prédominante en raison de la masse des muscles squelettiques (100 fois supérieure à la masse musculaire cardiaque).

Par conséquent, nous noterons que la fraction MB a un intérêt comme marqueur cardiaque. La mesure de celle-ci a longtemps été effectuée par des techniques d'immuno-inhibition, de plus en plus délaissées. Elles sont en effet perturbées par la présence dans le sérum :

- d'iso-enzymes BB qui entraînent une erreur par excès
- de macro CK, agglutination de l'enzyme autour d'immunoglobulines, entraînant des résultats aussi surprenants qu'une CK-MB supérieure à la CK totale par absence d'immuno-inhibition.

Les nouvelles méthodes immuno-métriques pondérales sont actuellement préférées. Elles permettent le dosage de la CK-MB en terme de masse et utilisent en général deux anticorps monoclonaux.

Localisée au niveau du noyau et de la mitochondrie, sa libération lors des lésions est plus lente que celle de la myoglobine. De plus, on observe avant la libération plasmatique un passage lymphatique qui explique un relargage maximal en 4 à 8 heures après la lésion.

Son augmentation est donnée comme caractéristique de l'infarctus du myocarde. Cependant, on observe des taux élevés de CK-MB dans le cadre de troubles musculaires importants, d'exercices intenses et de traitement médicamenteux, tels les statines.

Troponine

C'est une protéine microfibrillaire de l'appareil contractile musculaire, de masse relative environ 80 kDa. Elle est constituée de trois sous-unités codées par des gènes différents : les troponines T (TnT), C (TnC) et I (TnI).

■ Les TnT

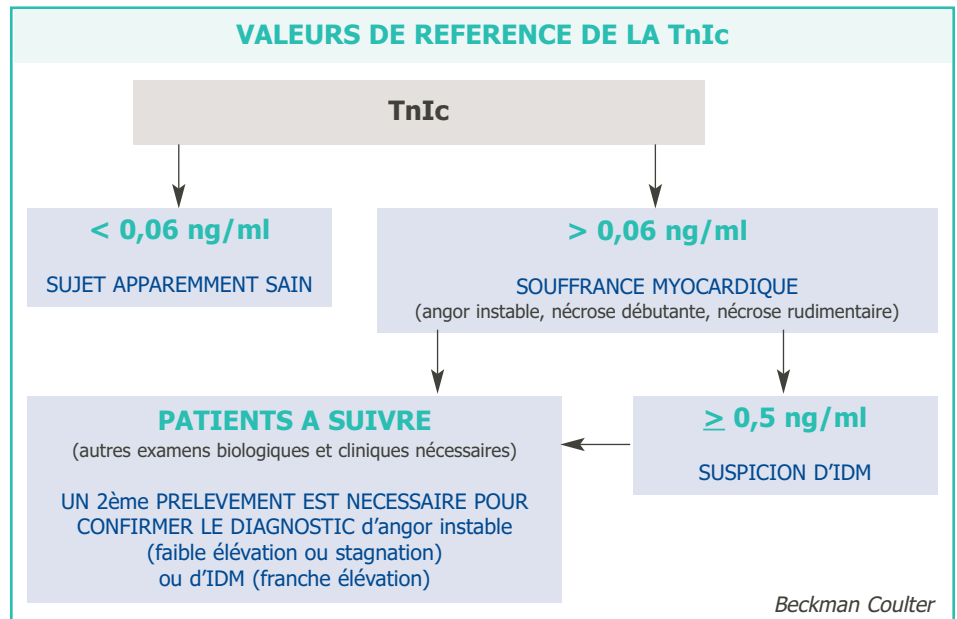
Elles comportent deux iso-formes distinctes, de localisation tissulaire spécifique : muscles striés ou myocarde (cTnT). La répartition cellulaire de la cTnT : 6 % dans le cytoplasme, 94 % dans la structure myofibrillaire se traduit, lors d'une nécrose myocardique, par un relargage bi-phasique, par un relargage bi-phasique de la cTnT (le pool cytoplasmique précédant le pool myofibrillaire).

■ La TnC

Elle est responsable de la liaison du calcium nécessaire à la contraction musculaire.

■ La TnI

C'est la sous-unité régulatrice de la troponine, intervenant dans le contrôle de la contractilité musculaire. Elle régule l'activité ATPasique des complexes actine/myosine des fibres musculaires striées. Trois iso-formes tissu-spécifiques de la TnI ont été identifiées dont la TnIc dans le myocarde. Cette iso-forme cardiaque comporte 30 acides aminés supplémentaires dans sa portion N-terminale, ce qui augmente sa masse relative (22,5 kDa) et lui confère une spécificité immunologique distincte utilisée à l'heure actuelle pour son dosage.



Intérêt dans le cadre du diagnostic

En dehors du diagnostic de l'IDM vrai, la troponine permet également de déceler des souffrances myocardiques où la nécrose est moins importante, tel l'angor instable.

Toute augmentation de troponine, doit en effet être classée comme signe de souffrance myocardique et doit être prise en compte.

Le patient doit être suivi dans le cadre de la recherche de pathologies sous jacentes.

Les valeurs usuelles de ce paramètre sont en effet de deux sortes : le seuil décisionnel qui caractérise l'infarctus est déterminé par le calcul des courbes ROC et la limite supérieure de l'intervalle de référence (percentile 97.5) est utilisée pour caractériser une souffrance myocardique.

Intérêt dans le suivi thérapeutique et clinique

■ Suivi des reperfusions

On observe un phénomène de "wash out" qui consiste en un lavage interstitiel dû à la circulation rétablie. Celui-ci entraîne une libération massive et précoce des substances accumulées dans le secteur interstitiel au cours de l'ischémie.

S'ensuit une diminution rapide de ce paramètre, témoignant de l'efficacité de la reperfusion. Deux dosages à 90 minutes d'intervalle sont recommandés.

■ Suivi de la chirurgie cardiaque

Toute élévation de la troponine aurait une valeur prédictive de la survenue d'une complication par infarctus du myocarde.

■ Suivi des transplantations cardiaques

La troponine peut constituer un marqueur de rejet plus sensible que les résultats de l'histologie sur biopsie.

Le diagnostic de l'infarctus du myocarde est soumis à des recommandations des sociétés de cardiologie aussi bien françaises qu'internationales :

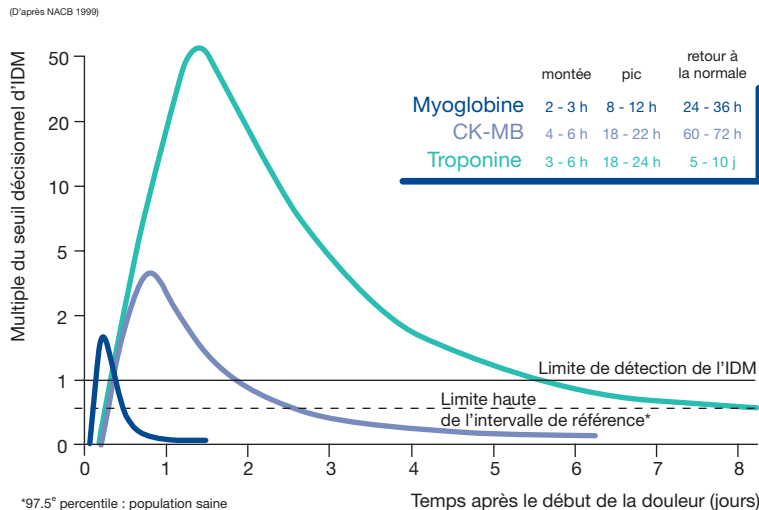
Il est recommandé d'utiliser deux marqueurs :

- précoce : la myoglobine
- plus tardif : la troponine

La CPK totale n'est plus recommandée et l'utilisation de la LDH (Lactate deshydrogénase) et de la TGO (Alanine Amino Transférase) est à abandonner.

Enfin les critères biologiques d'exclusion des nécroses sont basés sur la mesure répétée de ces paramètres : à l'admission : T0, T0 + 6 h, T0 + 12 h, et pour les instances américaines : T0 + 24 h.

CINETIQUE DES MARQUEURS DE L'ATTEINTE AIGUE



Cinétique des marqueurs de l'atteinte aiguë

Le choix de mesures répétées est basé sur la cinétique de ces éléments et justifié par la nécessité de connaître la localisation du patient sur ces courbes.

La myoglobine première molécule à être libérée augmente rapidement en 2 à 3 heures pour présenter un pic autour de 8 heures après la lésion. Par contre, son retour au taux de base est rapide, en 24 heures le patient retrouve son taux normal de myoglobine. C'est pourquoi, ce paramètre doit être mesuré dès l'admission du patient mais aussi à la 4^{ème} et à la 8^{ème} heure.

La CK-MB, de part sa situation mitochondriale, est libérée dans la circulation 4 à 6 heures après l'atteinte. Elle parvient à son maximum en 20 heures environ et sera retrouvée au taux de base en 72 heures.

La troponine présente une cinétique de départ identique à celle de la CK-MB mais son retour aux valeurs de base s'effectue en 5 à 10 jours. Ceci lui confère un intérêt supplémentaire de diagnostic rétrospectif. Une douleur peut encore après deux jours être typée comme ayant une origine cardiaque.

De plus, les dosages multiples : admission, 4 heures, 8 heures et 24 heures au minimum permettent d'utiliser les caractères pronostiques de ce paramètre. Toute rupture de la cinétique descendante est de mauvais pronostic dans l'évolution de la pathologie.

LES MARQUEURS DE L'ATTEINTE CHRONIQUE

Peptides natriurétiques : le BNP

Il existe trois peptides natriurétiques, qui régulent la balance hydrosodée en augmentant la diurèse, la natriurèse, la filtration glomérulaire et en diminuant la rétention sodée. Tous possèdent en commun une structure en anneau, fermée par un pont disulfure ; leur différence biochimique se situe au niveau de la chaîne terminale.

- ANF : Atrial Natriuretic Factor
- BNP : Brain Natriuretic Peptide
- CNP : Type C Natriuretic Peptide

L'origine de leur synthèse et la nature de leur stimulation sont différentes et permettent leur utilisation différentielle dans le diagnostic ou le suivi de pathologies cardiaques.

| Peptide | Origine | Stimulus |
|---------|-------------|----------------------------|
| ANF | Oreillette | Distension de l'oreillette |
| BNP | Ventricule | Surpression du ventricule |
| CNP | Endothélium | Stress endothélial |

Le CNP reste localisé au niveau endothélial et aucune technique n'est disponible à l'heure actuelle pour sa mesure dans la circulation.

De part sa localisation ventriculaire quasi-exclusive, le BNP semble le plus intéressant et le plus sensible pour le diagnostic et le suivi de l'insuffisance cardiaque.

Il est sécrété principalement au niveau du ventricule gauche, en réponse à des stimuli surtout mécaniques comme la distension du ventricule par expansion de volume ou l'augmentation de pression.

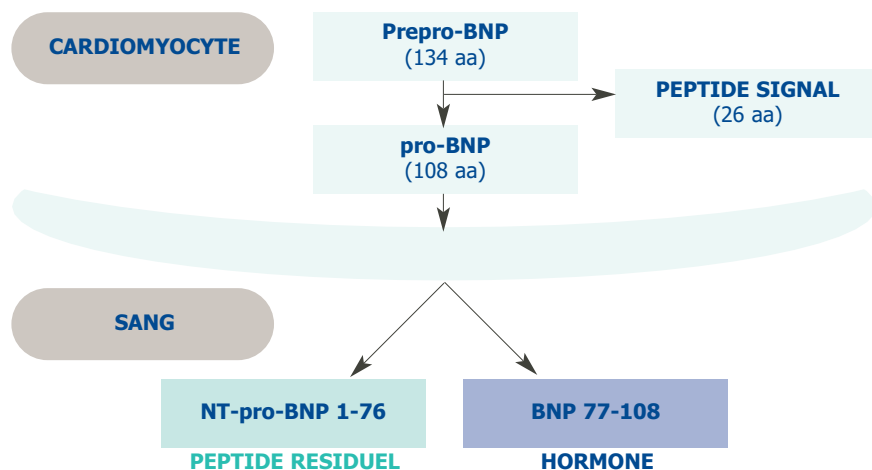
Toute dilatation du ventricule entraîne ainsi une augmentation de ce paramètre, qui est alors mesurable dans la circulation sanguine.

La synthèse du BNP a lieu au niveau des cardiocytes et le pro-BNP donne naissance à deux métabolites circulants sécrétés en quantité équimolaire :

- NT-proBNP : molécule inactive qui est en fait un peptide résiduel
- BNP : molécule à activité hormonale

Ces deux éléments sont utilisables pour le diagnostic ou le suivi des patients. Des anticorps sont disponibles pour chacun. Tous deux semblent avoir les mêmes caractéristiques diagnostiques, pronostiques et le même intérêt au cours du suivi thérapeutique

SYNTHÈSE, SECRETION et ELIMINATION du BNP



D'après J. Mair, Clin Chem Lab Med ; 39/7 : 571-588

mais ont été mis au point par des industriels différents. Le dosage s'effectue par des techniques immunoenzymatiques et immunoradiométriques utilisant des anticorps monoclonaux.

L'élimination de ces deux paramètres est rénale et les valeurs obtenues dans le cadre de l'insuffisance rénale ont été longuement discutées pour l'un comme pour l'autre. Il est maintenant démontré que BNP comme NT-proBNP augmentent dans le cadre de cette pathologie :

- par surcharge volémique, défaut d'élimination rénale et diminution des fonctions cardiaques pour le BNP;
- par diminution de la filtration glomérulaire pour le NT-proBNP, celui-ci étant légèrement plus influencé par l'aggravation de la fonction rénale que le BNP. Cette différence pourrait être due à la différence de clairance des deux peptides.

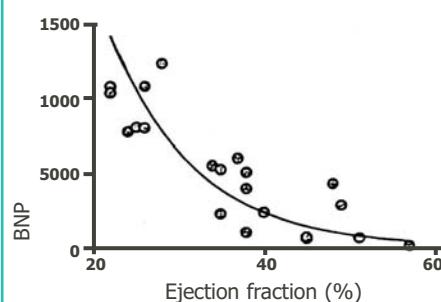
Cependant, la variation des deux paramètres reste largement significative en cas de dyspnée d'origine cardiaque et ce même en présence d'une insuffisance rénale, justifiant leur dosage dans ce cadre.

Intérêt diagnostic : l'insuffisance cardiaque

L'insuffisance cardiaque est un problème majeur de santé publique. Sa prévalence en Europe est de l'ordre de 0,4 à 2 %, sans compter les patients asymptomatiques. Elle augmente rapidement avec l'âge (moyenne 74 ans) et le vieillissement de la population explique cette croissance.

En l'absence de traitement adéquat et de cause curable, la mortalité est en moyenne de 50 % à quatre ans. La dyspnée est un signe clinique majeur de l'insuffisance cardiaque aiguë mais elle peut aussi être due à une pneumopathie, une infection pulmonaire, une embolie pulmonaire et il est intéressant de posséder un marqueur qui puisse en faire le diagnostic différentiel.

CORRELATION du BNP avec la FRACTION D'ÉJECTION



Bevilacqua et al., Clin. Chem. 1997 ; 43 : 2439-40

En 1997, Belavicqua et al. démontrent une corrélation inverse entre les taux de BNP et la fraction d'éjection cardiaque. Plus celle-ci est réduite, plus le taux de BNP est important, pouvant atteindre des valeurs jusqu'à 30 fois le taux de base.

Ainsi, à un cutt off de 100 ng/l, le BNP présente une sensibilité de 93 % et une spécificité de 79 % pour détecter les patients ayant une fraction d'éjection inférieure à 50 %. Dans l'étude de DAO Q., le BNP a été dosé chez des patients se présentant aux urgences pour une dyspnée. Lorsque la dyspnée est attribuée à une maladie pulmonaire, le taux moyen de BNP est voisin de 90 ng/l. En cas d'insuffisance cardiaque congestive, ce taux peut atteindre 1000 ng/l.

En dehors de ces dyspnées aiguës, le BNP est également un excellent marqueur de dysfonction ventriculaire gauche. Un taux de BNP normal présente une valeur prédictive négative de 97 % pour le diagnostic de dysfonction ventriculaire gauche systolique. Cependant, ce paramètre ne peut faire la différence entre dysfonction systolique et diastolique. Par contre, il reste proportionnel à l'importance de l'insuffisance.

Les signes cliniques de l'insuffisance cardiaques sont : dyspnée, asthénie et œdème.

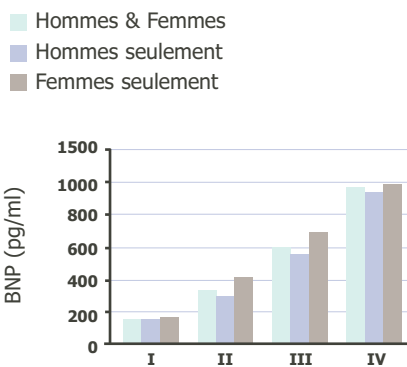
Une classification internationale a été établie par la NYHA (New York Heart Association) :

- Classe I : asymptomatique, gêne lors d'efforts exceptionnels.
- Classe II : gêne modérée pour des efforts importants.
- Classe III : gêne ressentie lors d'efforts modérés
- Classe IV : gêne lors du moindre effort ou même au repos.

L'évaluation des patients se fait par un test de marche de 6 minutes montrant une bonne corrélation entre gravité de l'insuffisance cardiaque et nombre de mètres parcourus pendant ces 6 minutes.

Le BNP est très bien corrélé à cette atteinte fonctionnelle. Moins la distance parcourue par le patient est grande, plus le BNP plasmatique est élevé.

TAUX de BNP et CLASSIFICATION NYHA



A. S. Maisel, *Reviews in cardiovascular Medicine*, Vol 2 Suppl 2, 2001
Données Biosite

Ainsi chez les patients se présentant dans un service médical avec une dyspnée, le BNP au seuil de 100 pg/ml permet de distinguer les patients chez qui l'insuffisance cardiaque est au premier plan (BNP élevé) de ceux chez qui la pathologie cardiaque est absente. L'intérêt principal réside donc dans sa valeur prédictive négative.

Entre 100 et 400 ng/l : L'échographie transthoracique est indispensable à la recherche d'une cardiopathie ou à l'élimination d'un diagnostic alternatif (cœur pulmonaire aigu, hypertension pulmonaire ou épanchement péricardique).

Au delà de 400 ng/l : Le diagnostic d'insuffisance cardiaque aiguë est hautement probable.

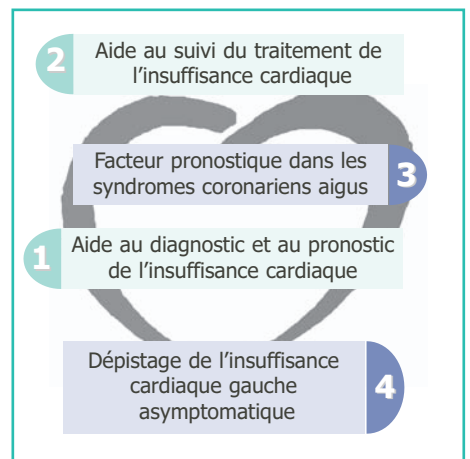
Intérêt dans le suivi thérapeutique

Au cours du suivi ambulatoire des patients traités efficacement pour une insuffisance cardiaque, les valeurs retrouvées sont supérieures à la normale mais stables (de 200 à 300 ng/l). Leur évolution peut ainsi servir de guide pour le traitement. De fait, le BNP permet de distinguer les bons et les mauvais répondeurs au traitement et serait un meilleur critère que l'évolution clinique. Toute augmentation par rapport au taux de base serait le signe d'une aggravation de la pathologie.

Cette molécule ouvre, de plus, des perspectives vers de nouvelles voies thérapeutiques dans le traitement de l'insuffisance cardiaque, soit de façon directe par l'utilisation d'un BNP recombinant, soit de façon indirecte par les inhibiteurs de son catabolisme. Cependant, les trousseaux de dosages du BNP ne permettent pas de distinguer le BNP endogène du BNP médicament et dans ce cas, seul le pro-BNP permet le suivi efficace de ces patients.

Intérêt pronostique

Il a été démontré que les valeurs du BNP augmentaient tardivement au cours de l'infarctus du myocarde, ce qui n'en fait pas un marqueur de diagnostic mais un bon marqueur de remodelage cardiaque.



De plus, il constitue un indicateur indépendant de survie après ces infarctus.

Il est en effet corrélé au risque d'apparition d'événements graves à 30 jours et à 10 mois.

Dans ce cadre, le BNP augmente après 24 h, puis se dessine un retour très lent au taux de base (4 à 5 semaines). Un second pic peut apparaître après 5 à 6 jours. Cette recrudescence du taux serait de mauvais pronostic au cours de l'évolution de la pathologie. Elle est en effet plus élevée chez les patients en récurrence, ainsi que chez ceux présentant une diminution de la fraction d'éjection ou un taux de CK-MB élevé de façon persistante.

Ce BNP peut donc se révéler particulièrement utile pour identifier les patients pour lesquels une stratégie invasive sera la plus bénéfique.

Le BNP et le pro-BNP sont les seuls marqueurs biologiques de l'insuffisance cardiaque ; leur intérêt majeur réside dans leur valeur prédictive négative tout en étant bien corrélés avec la sévérité de la maladie.

BIBLIOGRAPHIE

Chenevier-Gobeaux C, Claessens Y-E, Voyer S, Ekindjian OG, Ginsburg C, Desmoulins D. Concentrations plasmatiques du peptide natriurétique type B (BNP) et du fragment N-terminal du propeptide (NT-proBNP) aux urgences : influence de la fonction rénale. *Immuno anal Biol Spéc* 2005 ; 20 : 295-300.

Harrison A, Morrison LK, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Dao Q, Hlavin P, Maisel AS. B-type natriuretic peptide predicts future cardiac events in patients presenting to the emergency department with dyspnea. *Ann Emerg Med* 2002 ; 39/2 : 131-138.

Odoze C. Insuffisance cardiaque et peptides natriurétiques. *Spectra Bio* 2005 ; N°148 : 41-47.