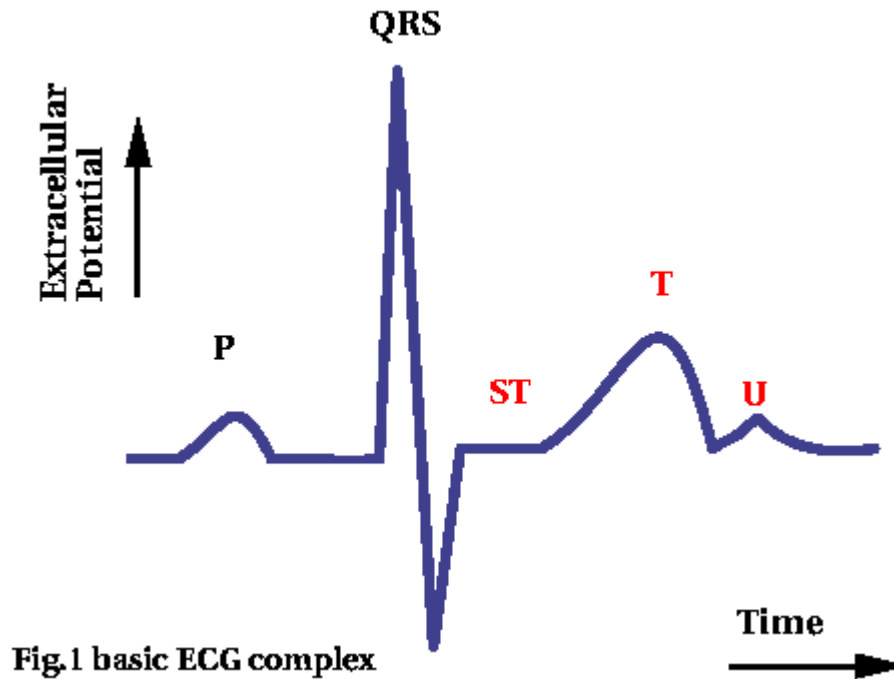


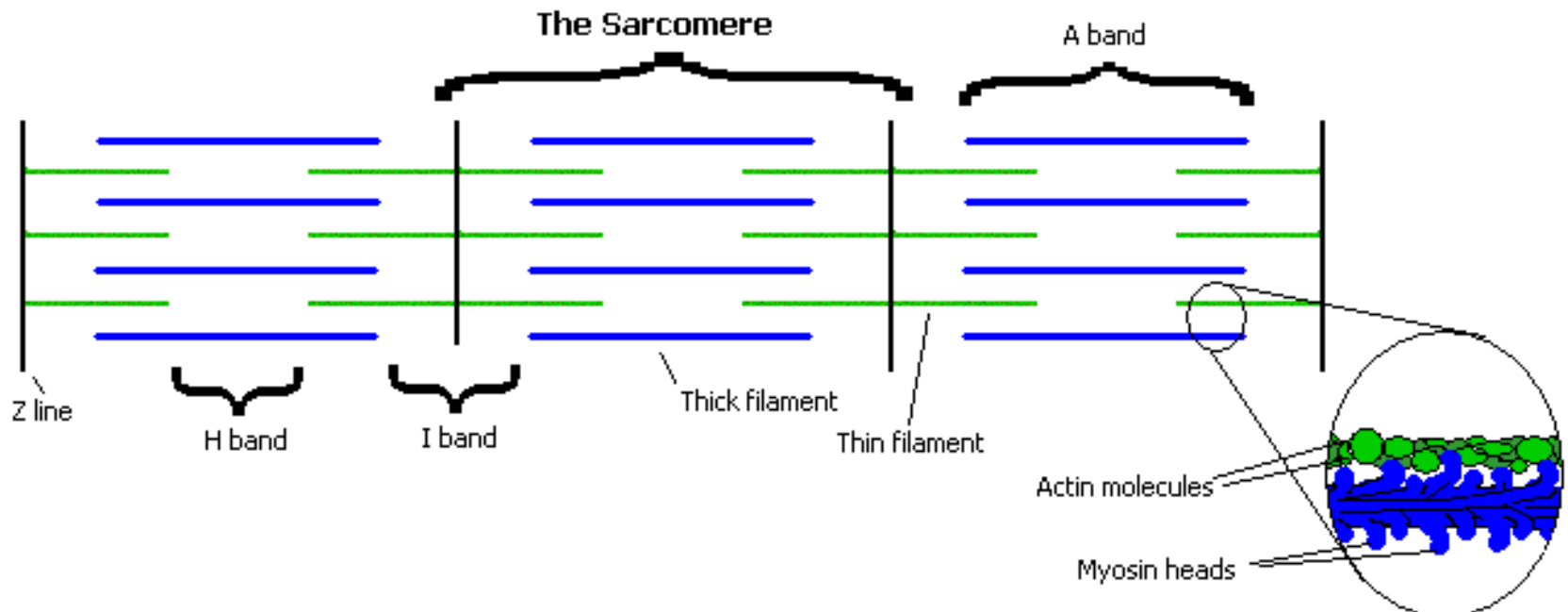
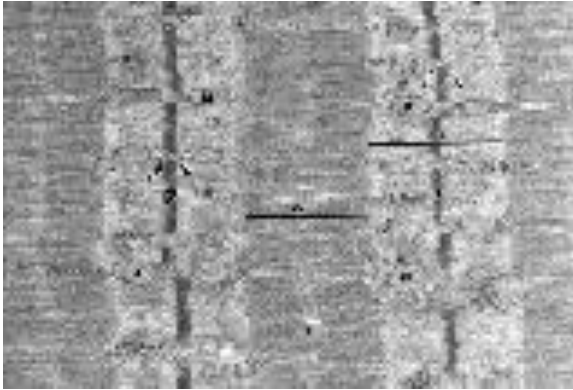
Cours IUT ABB2 Dr Bandelier



Exploration cardiaque au laboratoire

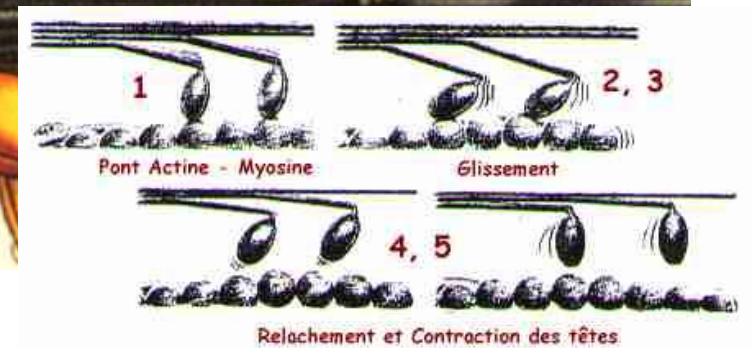
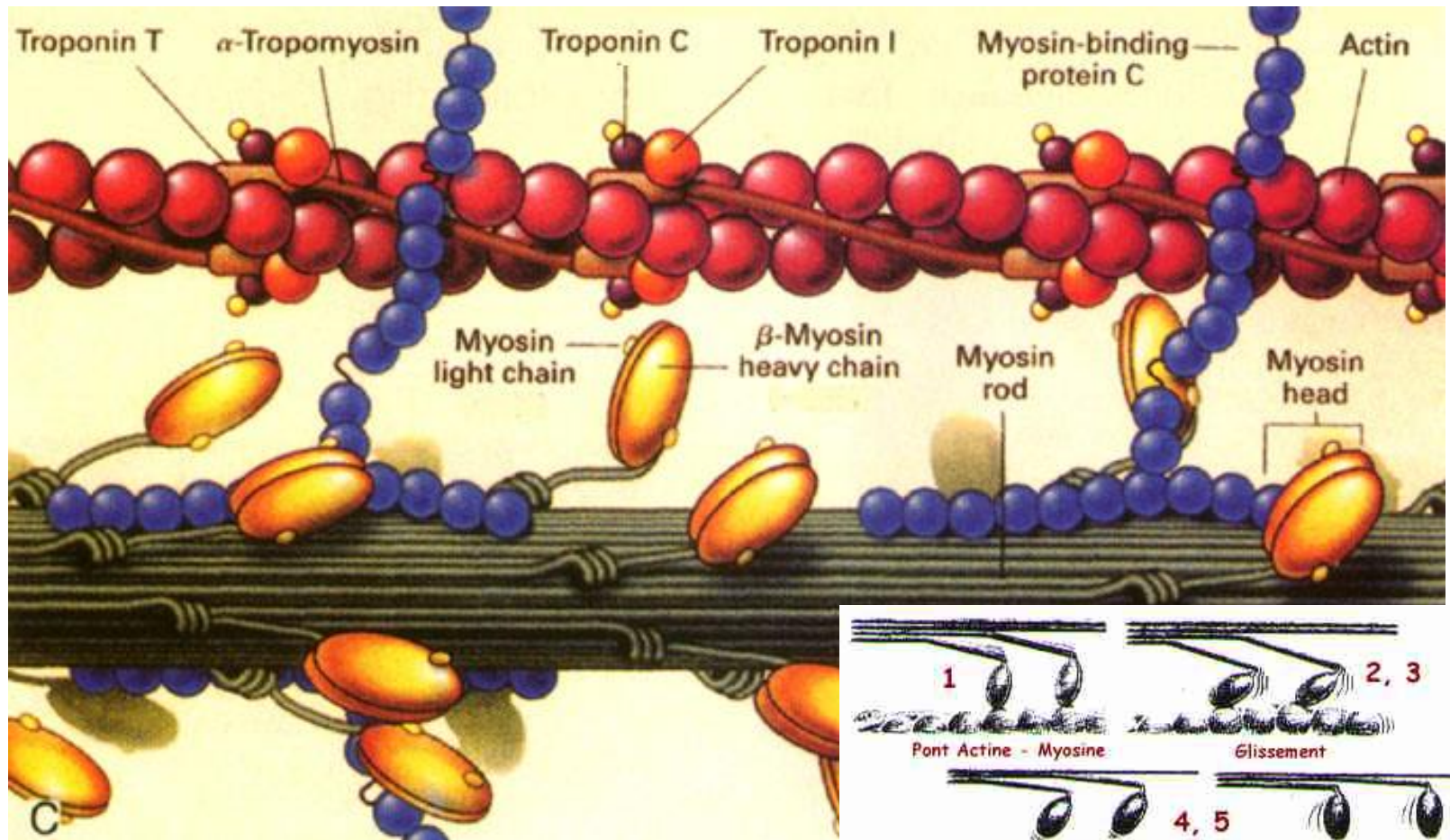
A. Rappel sur le muscle cardiaque.

1.1 Le sarcomère.



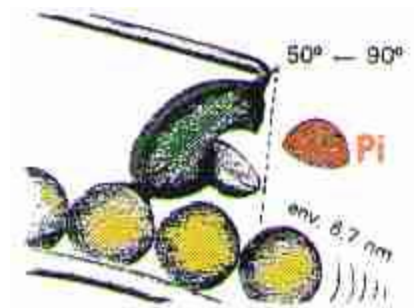
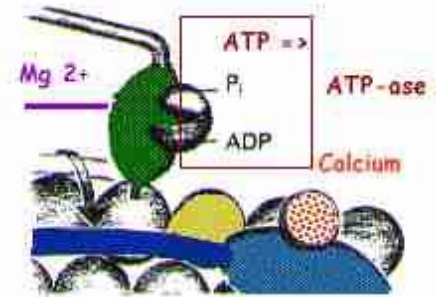
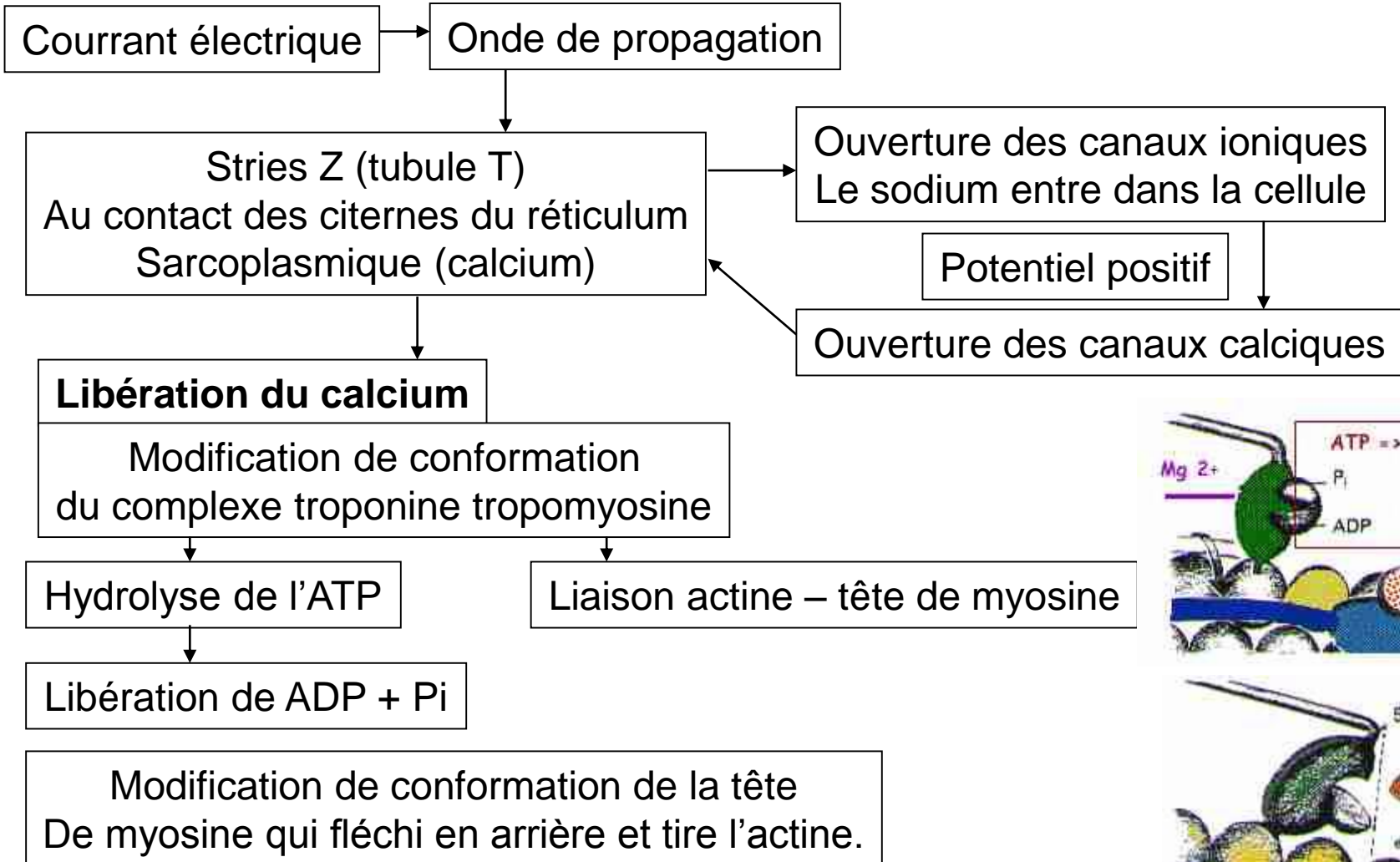
A. Rappel sur le muscle cardiaque.

1.2 Structure.



A. Rappel sur le muscle cardiaque.

1.3 Contraction.



A. Rappel sur le muscle cardiaque.

1.4 Nécrose cardiaque : infarctus.

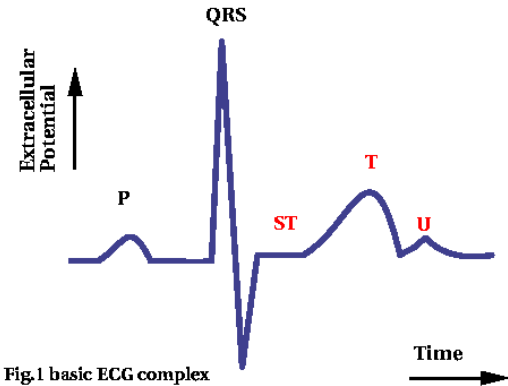


Fig.1 basic ECG complex



Sus décalage ST

Syndrome coronarien aigu.

1 – Objectivé à l'ECG (sus décalage ST) : Le diagnostic biologique est inutile, c'est l'infarctus avec obturation complète d'une coronaire nécessitant la thrombolyse du caillot ou l'angioplastie en urgence.

2 – Non objectivé à l'ECG (sans sus décalage ST) : obstruction incomplète. L'ensemble est très hétérogène et nécessite une prise en charge d'évaluation du risque en fonction de critères cliniques, électrocardiographiques et biologiques : marqueurs cardiaques.

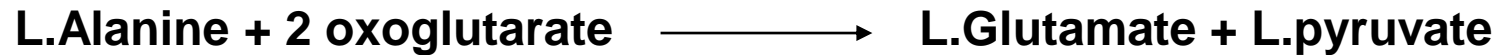
La valeur des marqueurs cardiaques ont aujourd'hui un grand intérêt pronostic et diagnostique dans la poursuite du traitement mais doivent être réalisables en urgence et renouvelables éventuellement.

B. Marqueurs cardiaques classiques.

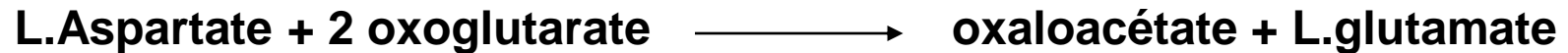
1.1 Transaminases : définition

Les transaminases ou aminotransférases catalysent le transfert irréversible d'un groupement aminé sur les acides α-cétoniques.

- Alanine aminotransférase ou ALAT ou ALT ou TGP



- Aspartate aminotransférase ou ASAT ou AST ou TGO



Présentes dans le foie, le myocarde et le muscle squelettique en quantité importante. Une lyse de ces cellules entraîne aussitôt une augmentation nette au niveau du sang.

Dans la lyse myocardique, le rapport ASAT/ALAT est toujours supérieur à 2.

B. Marqueurs cardiaques classiques.

1.2 Transaminases : dans l'IDM

1. Augmentation 4 à 12 heures après la nécrose
2. Pic entre 4 à 5 fois sa valeur de départ en 48 heures
3. Normalisation en 48 heures

1.3 Transaminases : Technique

L aspartate + 2 oxaloglutarate $\xrightarrow{\text{ASAT}}$ l. glutamate + oxaloacétate

Oxaloacétate + NADH+H+ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ NAD+ + l. malate

MDH : Malate déshydrogénase)

L alanine + 2 oxaloglutarate $\xrightarrow{\text{ALAT}}$ l. glutamate + pyruvate

pyruvate + NADH+H+ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ NAD+ + l. malate

LDH : Lactate déshydrogénase)

Mesure à 37°C en présence de phosphate de pyridoxal (coenzyme) des transaminases.

B. Marqueurs cardiaques classiques.

1.1 LDH : dans l'IDM

Enzyme présentant une structure tétramérique. Elle est présente dans le sang sous forme de 5 isoenzymes résultant de l'association de deux types de sous unités : H(heart) et M (muscle).

LDH1 H₄, LDH2 H₃M, LDH3 H₂M₂, LDH4 H₃M₁, LDH5 M₄

Les sous unités H sont essentiellement présentes dans les organes de forte oxygénation dont LDH1 et LDH2 majoritairement dans le muscle cardiaque.

La LDH est une oxydo réductase qui catalyse la transformation du lactate en pyruvate.

C'est la plus tardive des enzymes.

1. 12 à 16 heures après l'IDM
2. Maximum entre 30 et 40 heures
3. Retour à la normale en 6 jours.

B. Marqueurs cardiaques classiques.

2.2 LDH : Technique



2.3 LDH

La LDH est très sensible à l'hémolyse. La concentration intracellulaire est très importante.

Diagnostic : hémolyse, hépatite, oncologie (poumon), cytolyse.

L'évolution des marqueurs biologiques de l'IDM fait que ces enzymes de la cytolyse ne sont plus employées en cardiologie : pas assez spécifiques, pas assez précoces.

C. CKMB.

1.1 CK : généralités

La CK (créatine kinase) est essentiellement présente dans le muscle cardiaque et squelettique.

C'est une enzyme de la cytololyse.

Elle catalyse la phosphorylation de la créatine en créatine phosphate par le complexe Mg^{2+} ATP, en fournissant ainsi l'énergie nécessaire à la contraction musculaire.

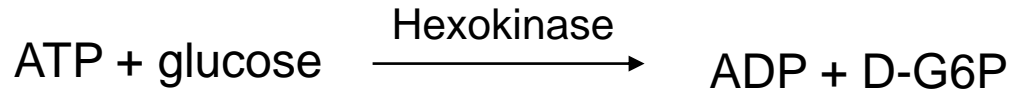
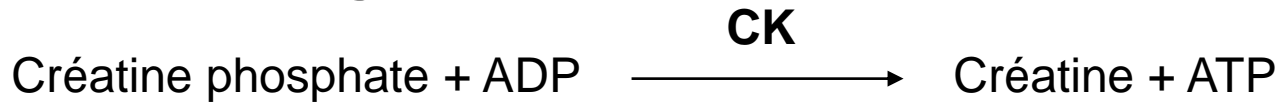
C'est une molécule de 300 AA formée de deux sous unités M (muscle) et B (Brain) qui conduisent à trois isoenzymes : CKMM, CKMB et CKBB.

La migration électrophorétique permet de séparer ces isoenzymes.

	CKMM	CKMB	CKBB
Muscle squelettique	99%	1%	
Myocarde	85-60%	15-40%	
Cerveau, iléon, foetus			95%
Sang	95%	< 5%	

C. CKMB.

1.2 CK : Dosage



1.3 CKMB : Dosage

1.3.1 Techniques basées sur l'activité enzymatique.

1. Révélation enzymatique après séparation électrophorétique.
2. Mesure enzymatique résiduelle après précipitation des sous unités M par un anticorps anti sous unité M. Le résultat est multiplié par deux et tient pour hypothèse l'absence de CKBB.

1.3.2 Technique de mesure « massique »

Dosage immuno-enzymatique en sandwich du peptide CKMB, utilisant deux anticorps : anti CKMB et anti CKM ou anti CKB fixé sur une phase solide.

Cette technique est standardisée par une CKMB recombinante.

B. CKMB.

1.4 CKMB : Intérêt du dosage massique.

La valeur de la CK totale est variable en fonction de l'exercice, de la masse musculaire, du sexe, de l'âge; mais néanmoins, dans les mesures d'activité, la fraction CKMB ne doit pas dépasser 5%.

Toute ischémie aiguë avec nécrose myocardique provoque une élévation de la CK (définition OMS de l'IDM)

Elle est précoce et courte c'est le meilleur paramètre enzymatique

1. Apparition 3 à 6 heures après le début de la douleur
2. Pic entre 22 et 26 heures
3. Retour à la normale en environ 72 heures
4. Le pic est important, 10 à 20 fois la valeur de base et corrélé à la masse de tissus nécrosé.

La CKMB massique suit la même cinétique, avec une spécificité uniquement cardiaque.

Valeur Normale < 7 ng/ml Index CKMB X 100/CKtotal < 10%

D. Myoglobine.

1.1 Myoglobine : généralités.

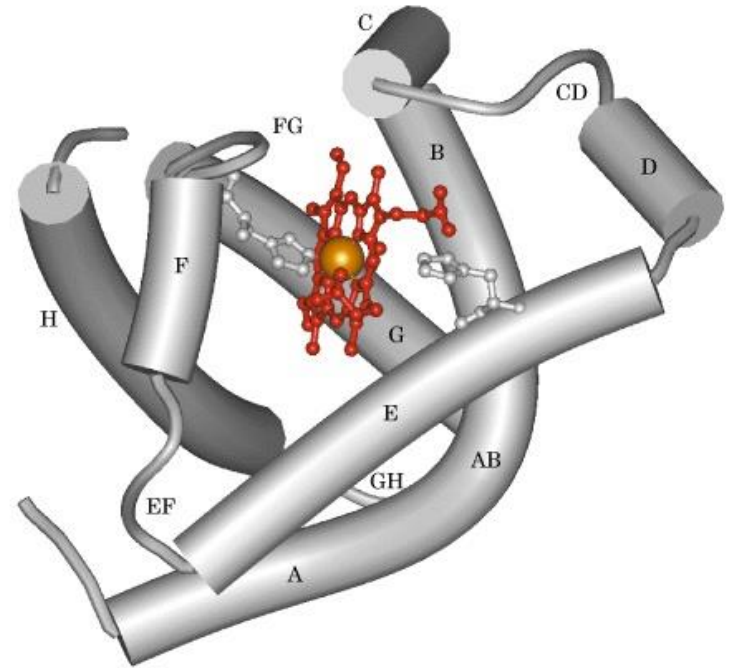
Molécule du muscle cardiaque et squelettique qui fournit l'oxygène lors de la contraction musculaire.

Toute lyse de la cellule musculaire provoque immédiatement l'apparition de myoglobine dans le sang.

Chaîne de globine sans pont disulfure qui porte un hème et à une affinité pour l'O₂ très supérieure à l'hémoglobine.

Demi vie sanguine 1 à 3 heures, VN : 20 à 70 ng/ml

Marqueur très précoce de la lyse musculaire.



D. Myoglobine.

1.2 Techniques de dosage.

1. Méthodes turbidimétriques et néphélométriques: complexe immun myoglobine anticorps anti myoglobine.
Méthodes adaptées à l'urgence, semi quantitatives ou quantitatives
2. Méthodes par agglutination de particules de latex sensibilisée par de l'anticorps anti myoglobine.
3. Méthodes immuno-chimique avec marqueur : les plus répandues.
 - immuno-enzymatique sandwich
bayer, stratus, dade, access, beckman
 - immuno-fluorescence/luminescence
Roche, Kryptor....

Toutes ces techniques sont adaptées à l'urgence 10-20 minutes avec une gamme de linéarité large de 0 à 1000 µg/L

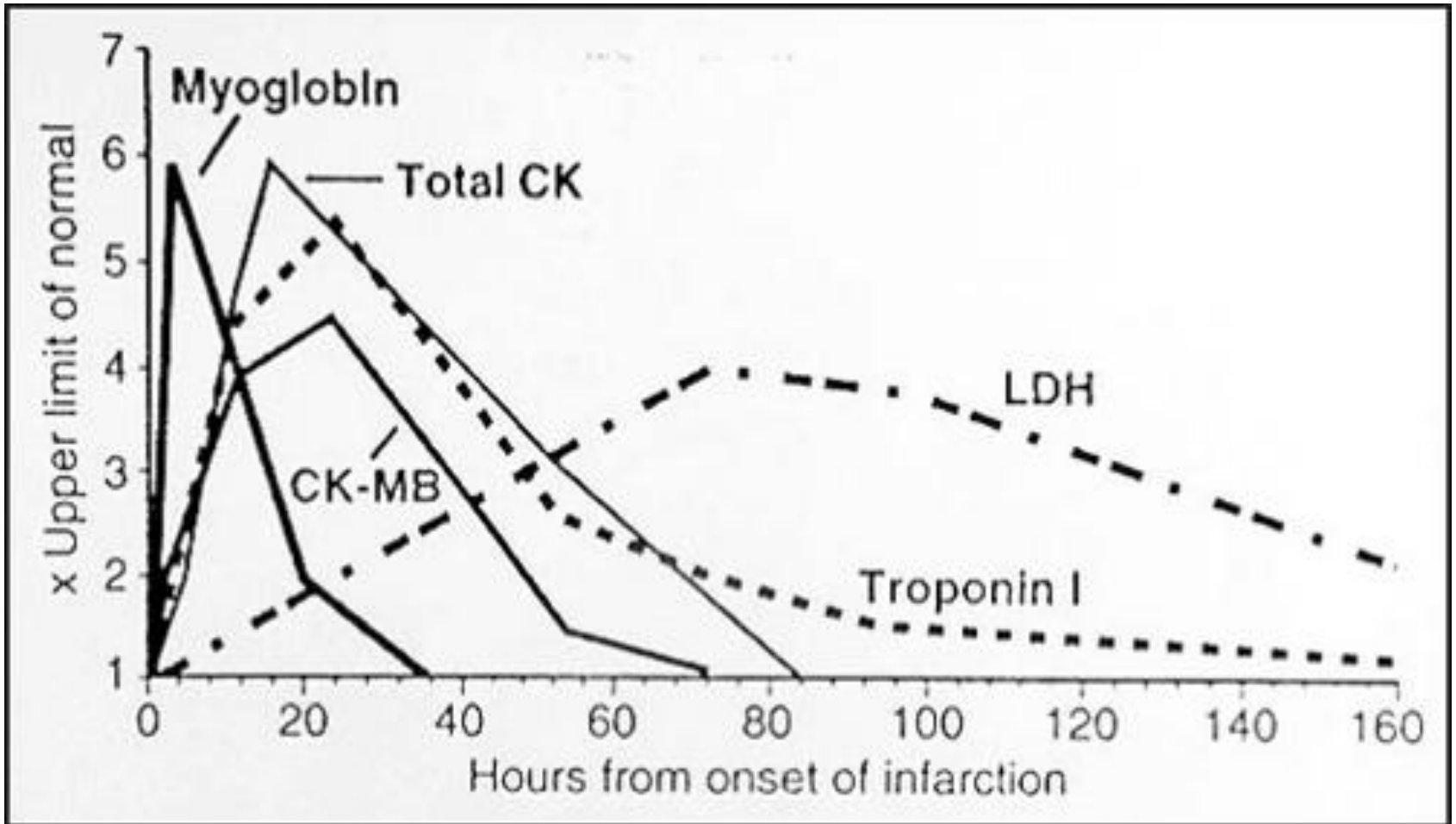
Il existe un effet crochet dans des concentrations très élevées

D. Myoglobine.

1.3 Valeur diagnostique.

C'est le marqueur le plus précoce. Sensibilité très supérieure à la CKMB.

Il faut savoir répéter ce test une heure après s'il est négatif si les soupçons cliniques persistent. C'est un bon marqueur de la récurrence mais c'est le moins spécifique.



D. Myoglobine.

1.3 Valeur diagnostique.

La myoglobine a également un intérêt dans le suivi de la reperfusion : fibrinolyse (lorsque l'obstacle coronarien est libéré). Si la reperfusion n'a pas lieu, il faudra obligatoirement faire une dilatation.

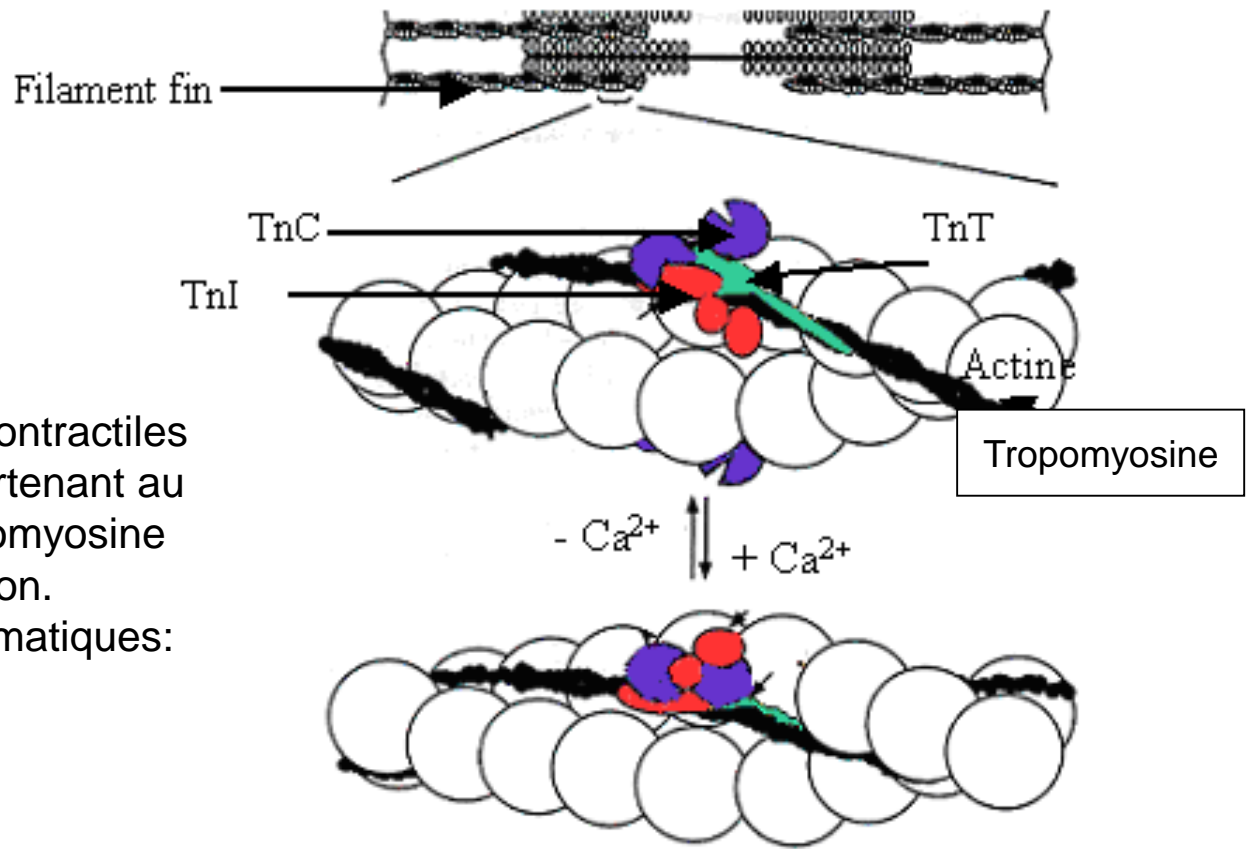
Au moment de la reperfusion, la myoglobine augmente brusquement et permet de s'assurer de cette reperfusion.

Dosage à T0 avant le traitement puis 90' après

VN < 70 µg/l avec une médiane à 30µg/l

Médiane à 1000 µg/l dans l'IDM, Médiane à 5000 µg/l dans la reperfusion.

E. Les troponines.



Ensemble de protéines contractiles en forme de têtard, appartenant au complexe troponine-tropomyosine régulateur de la contraction.

Trois protéines non enzymatiques:

- La Troponine C TnC
- La Troponine I TnI
- La Troponine T TnT

TnC fixe le calcium et inhibe la TnI permettant ainsi la contraction. La TnI inhibe l'activité ATPasique du complexe actine-myosine c'est-à-dire la contraction en l'absence de Calcium, la TnT fixe le complexe de la tropomyosine pour rigidifier l'actine.

E. Les troponines.

1.2 Formes circulantes.

Chacune des Tn comportent des isoformes musculaires squelettiques et cardiaques. Elle sont très spécifiques pour la TnI et la TnT mais pas pour la TnC qui n'est donc pas dosée. TnI et TnT ont deux isoformes squelettiques (lent et rapide) et une isoforme cardiaque très spécifique (TnIc et TnTc) absentes des tissus non myocardiques. Les isomères de la TnT ne diffèrent que de 6 à 12 AA alors que l'isomère cardiaque TnIc diffère de 31 AA.

Dans les formes circulantes on peut trouver des formes libres ou des formes complexées TnT-TnI , TnI-TnI

Dans les conditions de dosages actuels, TnT et TnIc ne sont pas détectées à l'état basal dans le sang et n'apparaissent que dans la nécrose cardiaque dans les 3 à 4 heures.

F. Le BNP.

1.1 Définition.

Initialement isolé de l'encéphale de porc d'où son nom (brain) - le BNP est sécrété par les ventricules sous l'effet d'une élévation de la pression et de l'étirement des cellules musculaires.

Comme les autres peptides natriurétiques, le BNP exerce trois actions

- Une vasodilatation : effet "nitré"
- Il favorise la diurèse et la natriurèse : effet furosémide
- Il s'oppose à l'activité du système rénine angiotensine quand elle est excessive : effet IEC

Le BNP apporte donc une réponse physiologique et proportionnelle à l'insuffisance ventriculaire gauche.

Toutefois, le BNP n'est pas un marqueur spécifique de l'insuffisance cardiaque gauche car le ventricule droit soumis à une hyperpression (embolie pulmonaire, bronchite chronique) sécrète également ce marqueur.

Le taux plasmatique BNP s'élève avec l'âge, est légèrement plus élevé chez les femmes et le traitement hormonal substitutif l'augmente de 20 % environ. Enfin, il peut être également augmenté en cas de valvulopathies, hypertension artérielle pulmonaire primitive, cirrhose hépatique, hyperthyroïdie, maladie de Cushing, insuffisance rénale, hypoxie et tumeurs cérébrales.

F. Le BNP.

1.2 Intérêt.

Pour une valeur seuil de 100 pg/ml, le dosage du BNP permet le dépistage de l'ICG avec une sensibilité de 80 à 95 % et une spécificité de 80 à 90 %. La confirmation par échographie cardiaque demeure toutefois nécessaire

Le Brain Natriuretic Peptide (BNP) est donc une aide précieuse et a été retenu dans les recommandations européennes pour le diagnostic d'IC car

Le BNP augmente avec l'IC qu'elle soit systolique ou diastolique

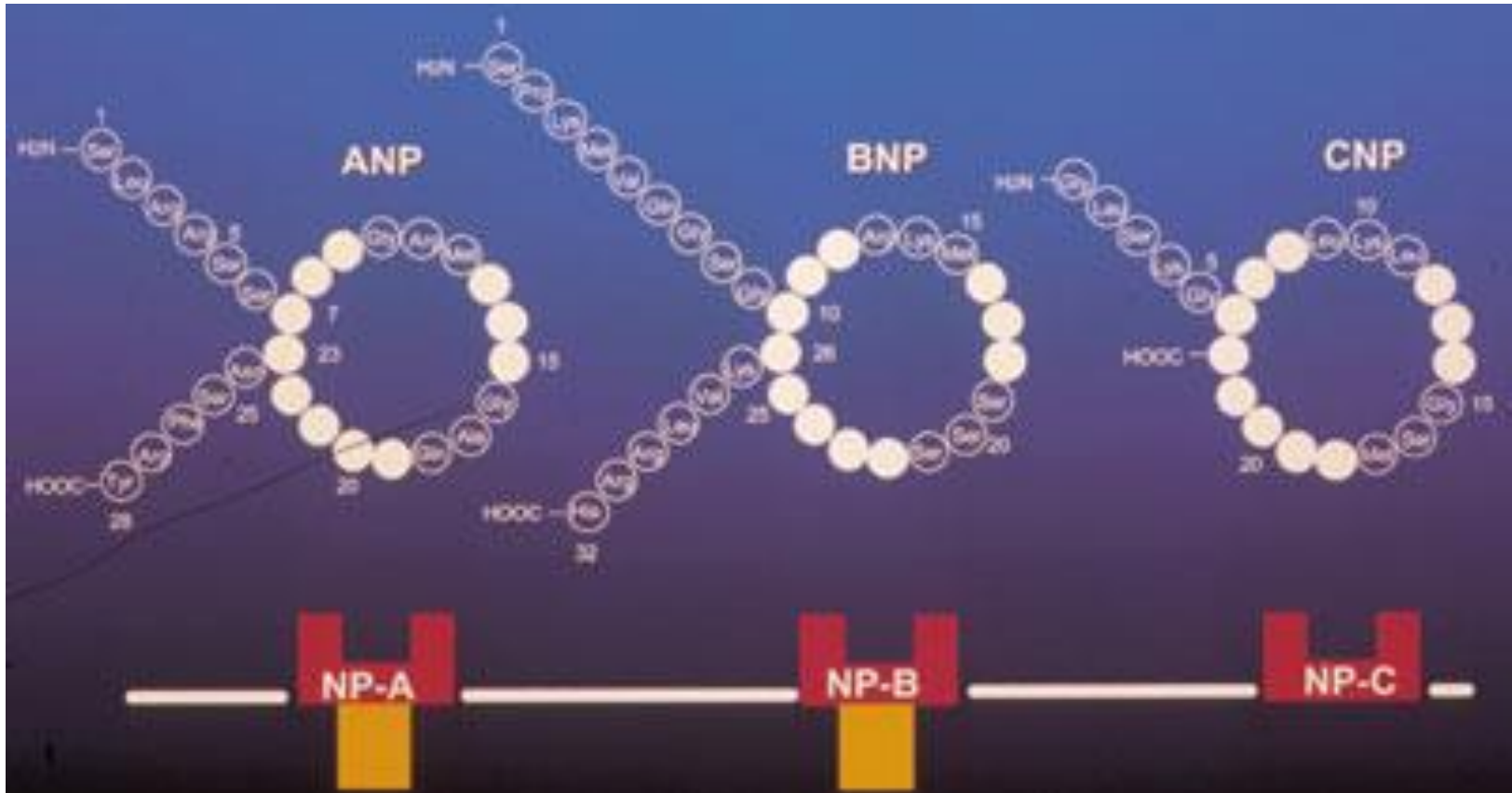
Il existe une corrélation entre le taux de BNP et la gravité de l'IC

En dehors de l'OAP, la clinique de l'IC (asthénie, dyspnée d'effort) est très peu spécifique : on peut estimer que si la radio du thorax, l'ECG et le BNP sont normaux, il est peu probable que le patient soit en insuffisance cardiaque..

F. Le BNP.

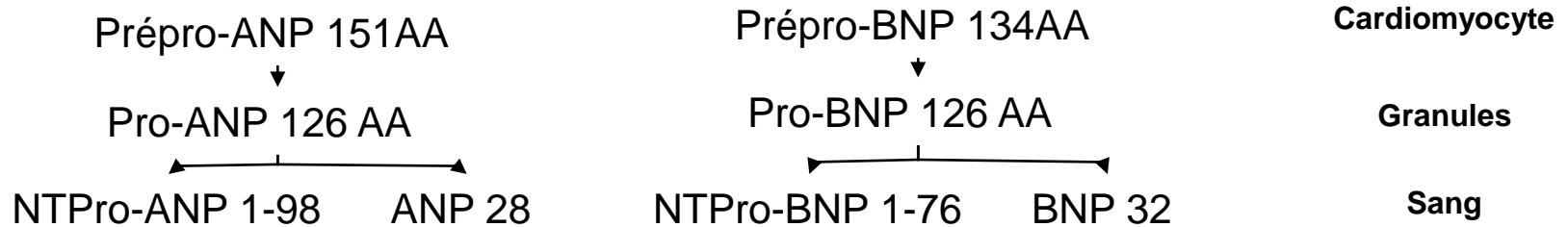
1.3 Structure et physiologie.

On retrouve trois types de peptides natriurétiques : ANP, BNP et CNP (secrété par l'endothélium) ayant une structure commune de 17 AA dont 11 AA identiques. Mais synthétisés sous l'influence de gènes différents. ANP et BNP sont synthétisés dans le cardiomyocyte.



F. Le BNP.

1.3 Structure et physiologie.



Antagonistes du système Rénine-Angiotensine-Aldostérone, diurétique, natriurétique et vasodilatateur permettant de compenser la charge hydrique et l'hypertension artérielle induite par l'insuffisance cardiaque.

Récepteurs spécifiques endothéliaux et muscles lisses capables de fixer les trois peptides avec des affinités différentes.

Demi vie de 3 minutes pour l'ANP et de 22 minutes pour le BNP et 2 heures pour le NTProBNP.

Seul le dosage du BNP est fait en routine (demi-vie) néanmoins le BNP reste sensible aux protéases qui dégradent la molécule en résidus non reconnus par les anticorps monoclonaux : Prélèvement sur sang total avec chélateur pour capter les métaux et inhiber ainsi les protéases : EDTA.

F. Le BNP.

1.4 Dosage.



Technique immunofluorimétrique BNP Test Triage
Utilise une cassette (verte) à usage unique sur sang total prélevé sur EDTA.

Séparation par filtration

Migration par capillarité dans la chambre réactionnelle et réaction avec un anticorps monoclonal recombinant de souris marqué par un conjugué fluorescent.

Migration du complexe vers une zone où un deuxième anticorps est fixé (sandwich).

Résultat en 15 minutes.

Fluorimètre portable.

Qualibrateur interne.

Sensibilité 6 ng/l.

L'intérêt est de diagnostiquer l'insuffisance cardiaque à un stade précoce, avant l'apparition des premiers signes cliniques.

Faire le diagnostic différentiel entre la dyspnée aigue de l'insuffisance respiratoire et de l'insuffisance cardiaque.

Cette appareil fait également le dosage sur la même cassette (rouge) de la Troponine, du CKMB et de la myoglobine.