

Diagnostica clinica di laboratorio:

Rischio cardiovascolare

Sindromi coronariche

Scompenso cardiaco

Linee guida nazionali di riferimento

Indice

<i>Presentazione</i>	5
<i>Gruppo di lavoro</i>	7
<i>Glossario</i>	9
<i>Note metodologiche</i>	11

1. Rischio cardiovascolare globale

1.1 Introduzione	19
1.2 Razionale	20
1.3 Esposizione dei risultati	20
1.4 I trial più importanti	22
1.5 Lettura dei risultati	23
1.6 Studi nazionali	26
1.7 Conclusioni	27
<i>Bibliografia</i>	28

2. I fattori di rischio biochimici nell'identificazione e classificazione nei soggetti a rischio elevato

2.1 Introduzione	31
2.2 Valutazione del rischio: fattori di rischio maggiori	32
2.3 Valutazione del rischio: fattori di rischio emergenti	33
2.4 Monitoraggio	40
<i>Bibliografia</i>	42

3. Parametri di laboratorio nelle sindromi coronariche acute

3.1 Marcatori biochimici di necrosi miocardica nelle sindromi coronariche acute	50
3.2 Parametri di laboratorio non marcatori di necrosi	53
<i>Bibliografia</i>	58

4. La diagnostica di laboratorio nello scompenso cardiaco acuto e cronico	
4.1 Epidemiologia dell'insufficienza cardiaca	63
4.2 BNP e scompenso cardiaco	63
4.3 I test proposti per la valutazione dell'insufficienza cardiaca	65
<i>Bibliografia</i>	83
5. Appendice	
5.1 La variabilità preanalitica	97
5.2 La variabilità analitica	100
<i>Bibliografia</i>	117

Presentazione

Nei paesi industrializzati le malattie cardiovascolari rappresentano la prima causa di morte, possono decorrere in maniera inavvertita anche per molti anni e, quando diagnosticate, il danno è in genere scarsamente recuperabile. La prevenzione delle malattie cardiovascolari rappresenta quindi una priorità assoluta per i sistemi sanitari.

Queste linee guida fanno il punto su quei test di laboratorio che consentono di predire e valutare, nella maniera meno generica possibile, il rischio di ammalare o di morire per eventi cardiovascolari con riferimento specifico al rischio cardiovascolare globale, alle sindromi coronariche e allo scompenso cardiaco.

Le strategie di prevenzione primaria si basano sostanzialmente sugli stili di vita e sul riconoscimento precoce delle cause sottostanti della malattia (i cosiddetti fattori di rischio) attraverso l'uso di parametri clinici e/o di laboratorio che hanno assunto nel tempo importanza primaria per la diagnosi, la scelta del percorso clinico-terapeutico ed il monitoraggio della patologia cardiovascolare.

L'insufficienza cardiaca rappresenta, tra l'altro, la più frequente causa di ospedalizzazione nella popolazione anziana e l'attuale andamento demografico giustifica un ulteriore specifico interesse per questa patologia così come sottolineano le recenti proposte delle Società Scientifiche di Cardiologia e di Medicina di laboratorio sull'utilizzo dei marcatori biochimici di danno miocardio.

In un mondo teso al miglioramento continuo delle conoscenze in ambito sanitario e all'affinamento delle tecniche di diagnosi e terapia, le linee guida contenute in questo elaborato possono rappresentare uno strumento molto importante ed utile nelle mani dell'operatore sanitario per la garanzia della sua validità scientifica, frutto della selezione attenta e sistematica delle più recenti evidenze della letteratura.

Laura Pellegrini
Direttore Agenzia per i Servizi Sanitari Regionali

Gruppo di lavoro

Bruno Rusticali	Coordinatore organizzativo Linee Guida ASSR
Alessandro Boccanelli	Presidente ANMCO - Presidio Ospedaliero San Giovanni- Addolorata - Roma
Giuseppe Cacciatore	Azienda Ospedaliera San Giovanni Addolorata - Roma
Fabio Capani	Università degli Studi Gabriele D'Annunzio - Chieti
Ferruccio Ceriotti	Istituto Scientifico- Universitario San Raffaele - Milano
Loredana Gili	ASSR
Mariastella Graziani	Ospedale Civile Maggiore dell'Azienda Ospedaliera di Verona - Verona
Cesare Greco	Presidio Ospedaliero San Giovanni-Addolorata - Roma
Paolo Levoni	Azienda Ospedaliera "Ospedali Riuniti di Bergamo" - Bergamo

Giorgio Monti	SIMG
Roberto Neri	Ospedale Giovanbattista Grassi Roma
Evasio Pasini	Fondazione Maugeri FISM - Milano
Mario Plebani	Azienda Ospedaliera dell'Università di Padova - Padova
Antonio Nicolucci	Consorzio Mario Negri Sud S. Maria Imbaro - Chieti
Giovanni Rezza	Istituto Superiore di Sanità Roma
Alberto Spanò	Coordinatore Linea Guida Azienda Ospedaliera Asl Roma B
Tommaso Trenti	Ausl di Modena - Modena
Segreteria organizzativa:	Chiara Giuliano - ASSR
Grafica:	Dario Fella - ASSR Alessandra Turco

Glossario

ABBREVIAZIONE	DEFINIZIONE
LDL	Low Density Lipoprotein
HDL	High Density Lipoprotein
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
Lp(a)	Lipoproteina (a)
PAI-1	Plasminogeni Activator Inhibitor 1
IFG	Impaired Fasting Glucose
OGTT	Oral Glucose Tolerance Test
IGT	Impaired Glucose Tolerance
BMI	Body Mass Index
POCT	Point Of Care Testing
IMA STE	Infarto Miocardico Acuto con ST Elevato
SCA	Sindrome Coronarica Acuta
ACS	Acute Coronary Syndrome
BNP	Brain Natriuretic Peptide
proBNP	pro (preormone) Brain Natriuretic Peptide
NT-proBNP	N-Terminal pro Brain Natriuretic Peptide

Note metodologiche

Le Linee Guida sono "raccomandazioni di comportamento clinico, elaborate mediante un processo di revisione sistematica della letteratura e delle opinioni di esperti, con lo scopo di aiutare i medici e i pazienti a decidere le modalità assistenziali più appropriate in specifiche situazioni cliniche" (Field 1990).

Pertanto le linee guida vengono correntemente promosse:

- **come mezzo di miglioramento della qualità dell'assistenza,**
- **come mezzo per ottimizzare l'esito degli interventi sui pazienti,**
- **per scoraggiare l'uso di interventi inefficaci o pericolosi,**
- **per migliorare e garantire l'adeguatezza delle cure,**
- **per identificare zone della pratica clinica in cui vi è insufficiente evidenza,**
- **per aiutare a bilanciare costi e risultati.**

Un recente Decreto del Ministero della Salute, intitolato **"Documento di indirizzo per lo sviluppo di un Sistema Nazionale Linee Guida"** prevede la costituzione di una struttura dove sono rappresentati i diversi livelli, centrale, regionale e aziendale, l'ISS e le Società scientifiche, che, a livello nazionale, provveda alla scelta delle priorità, la pro-

duzione e la validazione e certificazione di linee guida ed elabori documenti di indirizzo e interventi per la loro successiva implementazione affinché divengano uno degli strumenti effettivi del **Governo Clinico** e dell'organizzazione del Servizio Sanitario Nazionale.

Il Comitato Organizzativo di queste attività opera presso l'ASSR.

L'ASSR opera su formali indirizzi della Conferenza Stato-Regioni, e, tra questi, è prevista "l'elaborazione di linee guida cliniche o clinico-organizzative su tematiche di preminente interesse per la sanità pubblica".

Il Sistema Nazionale Linee Guida così inteso, utilizzando tutti gli strumenti individuati di volta in volta come utili ed opportuni, contribuirà certamente a formare una cultura per il personale del SSN in cui la medicina basata sull'evidenza sia più conosciuta ed utilizzata nella pratica clinica.

Le raccomandazioni contenute in questo volume sono state elaborate da un gruppo multidisciplinare di esperti e sono rivolte ad assistere chi opera in campo cardiologico e nella medicina generale, nella scelta del trattamento più appropriato per le differenti situazioni cliniche.

Tali raccomandazioni si basano su evidenze scientifiche derivate dalla revisione della letteratura, ove disponibili, e dall'opinione del comitato multidisciplinare di esperti costituenti il Gruppo di lavoro.

Le fonti sono:

- MEDLINE a partire dal 1990
- Cochrane Library fino al 2003
- Embase
- Ovid

Sono state consultate le linee guida e reports di importanti organismi scientifici internazionali e la bibliografia di questi documenti è stata valutata per identificare la letteratura più significativa:

- Diagnosis and treatment of heart failure due to left ventricular systolic dysfunction: Scottish intercollegiate guidelines network 1998
- Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: European Society of Cardiology 2001
- Guidelines for management of patients with chronic heart failure in Australia: National Heart Foundation of Australia NHF : Cardiac Society of Australia 2001
- NACB, National Academy of Clinical Biochemistry
- AHA, American Heart Association
- ACA, American College of Cardiology
- AACC, American Association of Clinical Chemistry

È stata fatta, comunque, un'opera di contestualizzazione e di adattamento alla realtà operativa italiana, nello sforzo di elaborare un testo non solo compilativo e accademico ma anche e soprattutto senza dogmatismi, nella convinzione che, (secondo lo stesso Sackett), la EBM "deve rispettare l'acume clinico degli operatori, le circostanze dei pazienti e i loro desideri e volontà".

La codifica dei livelli di evidenza è basata principalmente sulla folla letteratura di studi (randomizzati o meno) in cui uno o più farmaci vengono confrontati con il placebo o con altre alternative.

Nonostante che la letteratura internazionale evidenzia un recente crescente interesse, il campo dello studio delle proprietà delle indagini di laboratorio e dei suoi aspetti metodologici non è sviluppato come quello della farmacoepidemiologia.

Gli studi delle proprietà delle indagini di laboratorio hanno aspetti specifici quali la valutazione della presenza ed effetto dei bias di spettro e di verifica e l'uso di curve ROC.

I bias specie se sconosciuti hanno un effetto diretto sul potere predittivo dei test e sulla loro applicazione quotidiana nel SSN.

Non vi è, inoltre, una concordanza internazionale sulle regole di buona condotta metodologica nonostante la recentissima pubblicazione di uno strumento di valutazione della qualità degli studi (QUADAS) e di uno standard di reporting degli stessi (STARD statement).

Nella lineaguida i livelli di evidenza e forza della raccomandazione erano stati espressi inizialmente utilizzando la metodologia dell'ACC/AHA (American College of Cardiology/American Heart Association) con la seguente classificazione:

Livelli di evidenza

- Classe I:** Condizioni per le quali c'è evidenza e/o accordo generale che la procedura o il trattamento è utile e efficace.
- Classe II:** Condizioni per le quali c'è un'evidenza conflittuale e/o una divergenza di opinione circa l'utilità/efficacia di una procedura o trattamento.
- Classe IIa:** IL peso dell'evidenza o dell'opinione è in favore della procedura o del trattamento.
- Classe IIb:** L'utilità/efficacia è meno ben stabilita dalla evidenza o dall'opinione.
- Classe III:** Condizioni per le quali c'è un'evidenza e/o un accordo generale che la procedura o il trattamento non è utile/efficace e in alcuni casi può essere dannoso

Forza della raccomandazione

- A** Dati che derivano da studi clinici randomizzati che coinvolgono un largo numero di pazienti
- B** Dati che derivano da un numero limitato di studi che coinvolgono un piccolo numero di pazienti o da corrette analisi di studi non randomizzati o registri osservazionali
- C** Il consenso tra esperti è a base della raccomandazione

Onde adeguare i principi metodologici utilizzati dal manuale del PNLG, è stata attuata una conversione dei livelli di evidenza e della forza di raccomandazione al grading secondo le indicazioni contenute nel documento "Programma Nazionale Linee Guida - Manuale Metodologico - Come produrre, diffondere e aggiornare raccomandazioni per la pratica clinica ", esposto nella Tabella I.

Tabella I: Livelli delle prove e Forza delle raccomandazioni, da PNLG – Manuale Metodologico.

LIVELLI DELLE PROVE	
I	Prove ottenute da più studi clinici controllati randomizzati e/o da revisioni sistematiche di studi randomizzati
II	Prove ottenute da un solo studio randomizzato di disegno adeguato
III	Prove ottenute da studi di coorte non randomizzati con controlli concorrenti o storici o loro metanalisi
IV	Prove ottenute da studi retrospettivi tipo caso-controllo o loro metanalisi
V	Prove ottenute da studi di casistica ("serie di casi") senza gruppo di controllo
VI	Prove basate sull'opinione di esperti autorevoli o di comitati di esperti come indicato in linee guida o consensus conference, o basate su opinioni dei membri del gruppo di lavoro responsabile di queste linee guida

FORZA DELLE RACCOMANDAZIONI	
A	L'esecuzione di quella particolare procedura o test diagnostico è fortemente raccomandata. Indica una particolare raccomandazione sostenuta da prove scientifiche di buona qualità, anche se non necessariamente di tipo I o II
B	Si nutrono dei dubbi sul fatto che quella particolare procedura o intervento debba sempre essere raccomandata, ma si ritiene che la sua esecuzione debba essere attentamente considerata
C	Esiste una sostanziale incertezza a favore o contro la raccomandazione di eseguire la procedura o l'intervento
D	L'esecuzione della procedura non è raccomandata
E	Si sconsiglia fortemente l'esecuzione della procedura

La classificazione di una raccomandazione secondo il grading A, B, C, D, E non rispecchia solo la **qualità metodologica delle prove** disponibili, ma anche il **peso assistenziale** dello specifico problema, i **costi**, l'**accettabilità** e **praticabilità** dell'intervento.

Questo schema differenzia chiaramente il livello di prova dalla forza delle raccomandazioni cercando di utilizzare le due dimensioni in modo relativamente indipendente, pur nell'ambito della massima trasparenza e secondo i criteri espliciti alla base degli schemi di grading.

1. Il rischio cardiovascolare globale

1. Il rischio cardiovascolare globale

1.1 INTRODUZIONE

Nei paesi industrializzati la prevenzione delle malattie cardiovascolari è divenuta una assoluta priorità per una serie di ragioni:

- la patologia cardiovascolare rappresenta la prima causa di morte;
- decorre in modo silenzioso e subdolo per molti anni e, quando colpisce, il danno è scarsamente recuperabile, almeno in termini di malattia generalizzata;
- contrae strettissimi legami con lo stile di vita (fumo, iperalimentazione, sedentarietà) ed è, quindi, una patologia largamente evitabile;
- recenti studi di intervento che hanno corretto lo stile di vita inadeguato hanno fornito risultati di grande interesse sullo sviluppo delle patologie strettamente connesse, in particolare il diabete mellito.

Ciò fa comprendere come l'identificazione dei soggetti a rischio vasculopatico divenga uno degli obiettivi prioritari della prevenzione primaria, cioè rivolta a tutta la popolazione ancora non affetta dalla malattia. Inoltre, conoscere il numero dei soggetti a rischio permette di progettare soluzioni che vanno dalla organizzazione diagnostica e di follow-up, al trattamento inteso sia come modifica dello stile di vita che in senso farmacologico.

La moderna ricerca scientifica fornisce oggi la possibilità di predire il rischio di ammalare o di morire di eventi cardiovascolari con una precisione fin'ora mai raggiunta, anche se questo settore in continua evoluzione ci fornirà, in un futuro molto prossimo, ulteriori messe a punto che ci permetteranno di essere sempre meno generici nella valutazione del rischio.

1.2 RAZIONALE

Il razionale che è alla base di questo tipo di studi è facilmente intuibile: si tratta di seguire clinicamente (visita medica e misure laboratoristiche), per un certo numero di anni, gruppi sufficientemente consistenti di soggetti (studi prospettici di coorte), e cogliere la comparsa di eventi clinici e relativi dati di laboratorio. Alla fine dello studio i dati vengono sottoposti ad analisi statistica idonea, in grado di valutare se e quale contributo i vari dati raccolti nel tempo danno allo sviluppo della malattia e, soprattutto, la percentuale di soggetti che, in un arco temporale, di solito 10 anni, svilupperanno la malattia con una percentuale molto vicina alla realtà.

1.3 ESPOSIZIONE DEI RISULTATI

Vi è stata una notevole evoluzione in questi ultimi anni nella esposizione dei risultati in termini di rischio. Mentre negli anni '80 si dava particolare importanza ai singoli fattori di rischio modificabili (fumo, diabete, ipertensione arteriosa, dislipidemia), per cui si riusciva a calcolare il rischio di ammalare o di morire in rapporto a livelli progressivamente crescenti di ogni singolo fattore di rischio^(1,2), oggi si tende a ottenere una prospettiva globale che tenga conto, in modo simultaneo, dell'insieme dei vari fattori di rischio. Questa visione globale è emersa a seguito di evidenze spe-

rimentali che dimostravano l'azione sinergica dei vari fattori di rischio sullo sviluppo degli eventi cardiovascolari.

Questo nuovo modo di interpretare i fattori di rischio ci permette di essere, oltre che più aderenti alla realtà, anche molto più efficaci nel dimostrare l'azione additiva, e a volte anche moltiplicativa, dei fattori di rischio⁽³⁾.

Si riporta a questo proposito l'esperienza del Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT)⁽⁴⁾, studio di imponenti proporzioni (356.000 soggetti di sesso maschile di età compresa fra 35 e 57 anni) che segnò l'inizio della valutazione dei fattori rischio intesi in senso globale. Nella **fig.1** si dimostra la relazione esistente fra livello di coronarosclerosi e quindi rischio di sviluppare eventi coronarici, e i livelli di colesterolemia totale. La linea orizzontale indica la percentuale di interessamento della superficie coronarica che corrisponde al passaggio della cardiopatia ischemica dalla fase silente alla fase clinica. Soggetti con colesterolemie medie di livello progressivamente maggiore giungono a sviluppare una cardiopatia ischemica sintomatica ad età progressivamente minore.

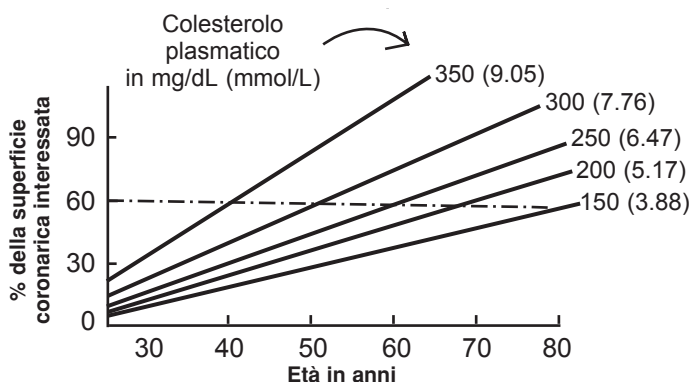


fig.1 - Relazione fra il livello di coronarosclerosi e i livelli di colesterolemia totale

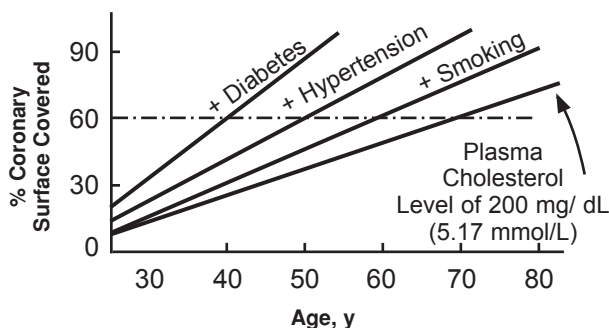


fig.2 - L'interrelazione fra i diversi fattori di rischio

Nella **fig.2** si nota l'interrelazione fra i diversi fattori di rischio. In particolare, un ipotetico soggetto che, con un livello di colesterolo totale di 200 mg/dl, raggiungerebbe un livello di cardiopatia ischemica sintomatica a 70 anni, in realtà lo raggiunge a 60 anni se fuma, a 50 anni se è anche iperteso e a 40 anni se è anche diabetico.

1.4 I TRIAL PIÙ IMPORTANTI

Oggi questo settore epidemiologico si è arricchito di numerosi studi di grandi dimensioni, che hanno sottolineato come la patologia cardiovascolare si presti discretamente ad essere imbrigliata in leggi statistiche in grado di fornirci un discreto livello di previsione. I più importanti fra questi, ognuno dei quali ha dato vita a diverse formule predittive, ed in ordine cronologico di comparsa nella letteratura internazionale, sono: il Framingham Study⁽⁵⁾, il Nuova Zelanda⁽⁶⁾, il Seven Country Study⁽⁷⁾, il PROCAM⁽⁸⁾, lo SCORE⁽⁹⁾.

Certamente siamo di fronte ad una notevole eterogeneità dei vari studi, non tanto nei confronti delle variabili utilizzate nella predizione, che rimangono le classiche soprac-

cennate, (fumo, ipercolesterolemia, ipertensione arteriosa e diabete mellito), cui si è aggiunta successivamente l'anamnesi familiare per eventi cardiovascolari, o per il periodo di predizione (quasi tutti a 10 anni), quanto per end-point oggetto dello studio: morte improvvisa, morte coronarica (improvvisa o non), infarto miocardico (sintomatico o non, fatale o non), angina pectoris, insufficienza cardiaca, TIA, ictus cerebri, interventi di rivascolarizzazione soprattutto coronarica, ma anche carotidea, malattia vascolare periferica.

Oggi siamo anche convinti che esistano altre numerose variabili di predizione (markers), tutt'ora sotto controllo. Al di là dei classici quattro fattori di rischio, sovrariportati, ai quali si è aggiunta successivamente l'anamnesi familiare di mortalità precoce per eventi cardio-vascolari, sono in fase di studio altre variabili, non ancora inserite ufficialmente nelle carte di rischio, quali: trigliceridemia, spessore intimale carotideo, parametri ECGrafici ed ecocardiografici, presenza di intolleranza glucidica, microalbuminuria, proteina C reattiva, fibrinogeno, omocisteina, apoproteina B, lipoproteina L(a), livello di inattività fisica ed altri. Se si dimostrerà un sufficiente potere predittivo, potranno essere agevolmente inseriti nelle carte di rischio per aumentare la potenzialità di predizione.

Un problema di non trascurabile importanza, che dovrà necessariamente essere corretto, ed in parte lo è già, è rappresentato dalla preponderanza degli studi nel sesso maschile e la relativa povertà nel sesso femminile.

1.5 LETTURA DEI RISULTATI

Dal punto di vista interpretativo, è evidente che la lettura dei risultati deve essere necessariamente agevole ed immediata, in quanto devono essere utilizzati non solo dagli operatori sanitari ma possibilmente anche dal grande pubblico,

in considerazione dell'importanza del messaggio che contengono. Sono nate così le cosiddette "carte di rischio" che permettono di avere un colpo d'occhio immediato e, con l'aiuto dei colori, conferiscono una efficace percezione del rischio. La **fig.3** e la **fig.4** sono tratte dallo studio SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation System), e si riferiscono rispettivamente a popolazioni a basso (**fig.3**) e ad alto rischio (**fig.4**). Lo studio SCORE si avvale di un ricco database derivato da numerosi studi prospettici europei, e valuta la mortalità a 10 anni per qualsiasi evento cardiovascolare, partendo dal sesso, età, fumo, pressione sistolica, colesterolo totale e rapporto colesterolo totale/HDL. Il vantaggio è quello di avere la possibilità di tarare la carta di rischio a seconda di popolazioni a basso o ad alto rischio. Le popolazioni a basso rischio sono: Belgio, Francia, Grecia, Italia,

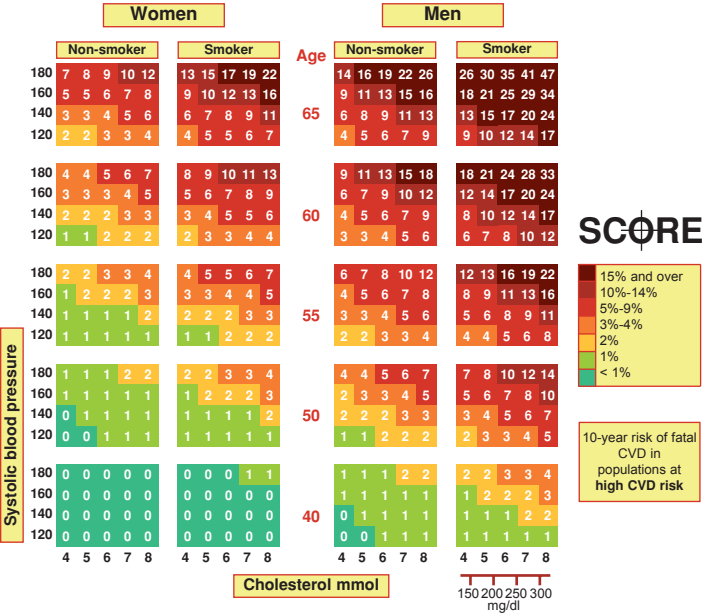


fig.3 - Carta di rischio per malattia cardiovascolare fatale a 10 anni, in popolazioni ad alto rischio.

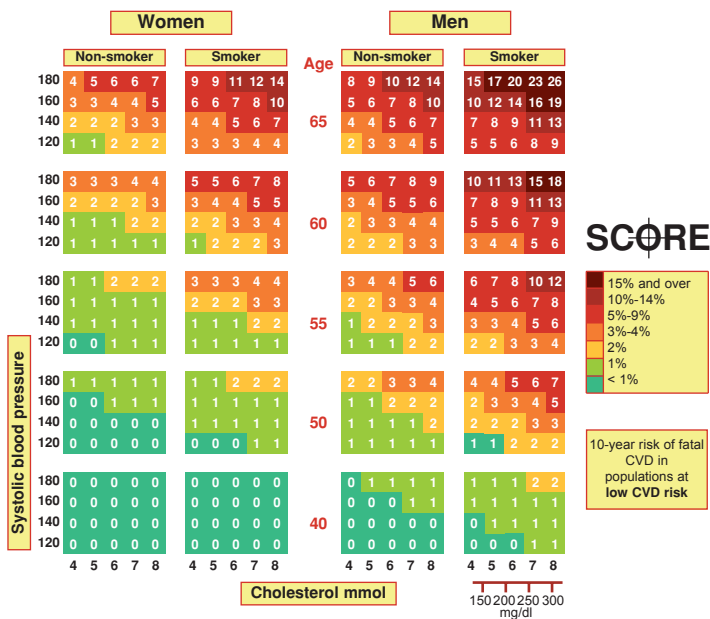


fig.4 - Carta di rischio per malattia cardiovascolare fatale a 10 anni, in popolazioni a basso rischio.

Lussemburgo, Portogallo, Spagna e Svizzera, mentre le rimanenti sono considerate ad alto rischio. Un altro vantaggio deriva dalla possibilità di ottenere dal web l'esatto livello di rischio (SCORECARD system), inserendo i dati personali, e valutando come si riduce il rischio a seconda della riduzione dei livelli dei vari fattori.

Infine, per i soggetti molto giovani è possibile ottenere, oltre alla previsione a 10 anni, anche quella a 60 anni, molto più efficace per il maggior numero di anni considerati.

È evidente che ogni carta di rischio riesce ad essere adeguatamente predittiva se riferita alla stessa popolazione in cui si è svolto lo studio. Il non rispettare questa accortezza può creare distorsioni più o meno importanti della stima del rischio. Se si applicano alla popolazione italiana i dati attual-

mente disponibili a livello internazionale, in particolare i dati di Framingham, si avrà una sovrastima del rischio. Infatti i dati di Framingham, tipici per una popolazione del nord America, si adattano discretamente alle popolazioni del nord Europa, ma molto poco a quelle del Mediterraneo.

1.6 STUDI NAZIONALI

Per questa ragione in Italia, dalla metà degli anni '80 è partita una raccolta di dati da parte del progetto Cuore, coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità e dall'area prevenzione del ANMCO (Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri). I primi tre registri di popolazione, che facevano parte del progetto MONICA OMS (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease), furono attivati in soggetti di età compresa fra 25 e 64 anni in Friuli, Brianza (periodo di osservazione di 10 anni) e Latina (3 anni). Nonostante i risultati fossero di grande valore, non potevano considerarsi rappresentativi di tutta la popolazione italiana, per cui altre realtà italiane furono cooptate nel progetto MONICA: Caltanissetta, Firenze, Modena, Napoli, Roma e Veneto. In collaborazione con le sezioni regionali dell'ANMCO, furono identificati 51 centri, con un rapporto di 1 ogni 1,5 milioni di abitanti e, comunque, uno per regione, con maggior accortezza verso le regioni meridionali, tradizionalmente più scoperte sotto il profilo epidemiologico. In ogni centro venivano invitati a essere visitati 200 cittadini per ogni decennio di età, compresa fra i 35 ed i 75 anni (25 soggetti di sesso maschile e 25 di sesso femminile), scelti casualmente dagli iscritti all'anagrafe comunale. Il numero totale di soggetti seguiti è di poco inferiore a 10.000 (4.908 uomini e 4.804 donne) e rappresenta oggi la miglior fonte disponibile per il nostro paese.

Oltre alle carte di rischio italiane che questo progetto ha realizzato, è disponibile on line⁽¹⁰⁾ anche il calcolo del rischio individualizzato. Questa valutazione è più precisa di

quella fornita dalle carte di rischio. Infatti, mentre le carte di rischio forniscono classi di rischio globale assoluto calcolate per categorie di fattori di rischio e si rifanno a intervalli prestabiliti di valori di colesterolemia e di pressione arteriosa, il calcolo del punteggio individuale tiene conto dei livelli individuali del paziente e, quindi, la valutazione viene derivata dal calcolo su valori di tipo continuo.

1.7 CONCLUSIONI

In un mondo teso al miglioramento continuo delle conoscenze in ambito sanitario al fine di ottenere una ottimizzazione dell'organizzazione per l'affinamento delle tecniche di prevenzione e di terapia, la valutazione del rischio cardiovascolare globale derivato dall'analisi dei numerosi fattori di rischio è divenuto uno strumento di portata strategica per il mondo industrializzato, in grado di incidere fortemente sull'opinione pubblica. Esso è divenuto inoltre uno strumento molto potente nelle mani dell'operatore sanitario, che, essendosi adoperato per la sua creazione, diviene di fatto il garante della sua validità scientifica.

BIBLIOGRAFIA

1. National Cholesterol Education Program Expert Panel. *Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults*. Arch Intern Med 1988; 148:36-69.
2. Study Group of the European Atherosclerosis Society. *Strategies for the prevention of coronary heart disease. A policy statement of the European Atherosclerosis Society*. Eur Heart J 1987; 8:77-88.
3. Task Force Report. *Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendations of the 2nd Task Force of European and Other Societies on coronary prevention*. Eur Heart J 1998; 19:1434-503.
4. Martin MJ, Hutley SB, Browner WS, et al. *Serum cholesterol, blood pressure and mortality: implications from a cohort of 361.662 men*. Lancet 1986; 2:933-36.
5. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, et al. *Prediction of coronary heart disease using risk factor categories*. Circulation 1998; 97:1837-47.
6. Jackson R. *Updated New Zealand cardiovascular disease risk-benefit prediction guide*. Brit Med J 2000; 320:709-10.
7. Menotti A, Puddu PE, Lanti M. *The estimate of cardiovascular risk. Theory, tools and problems*. Ann Ital Med Int 2002; 17:81-94.
8. Assmann G, Cullen P, Schulte H. *Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study*. Circulation 2002; 105:310-15.
9. Conroy RM, Pyörlä K, Fitzgerald AP, et al. *Estimation of ten year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project*. Eur Heart J 2003; 24:987-1003.
10. <http://www.cuore.iss.it/>.

2. I fattori di rischio biochimici nell'identificazione e classificazione dei soggetti a rischio elevato

2. I fattori di rischio biochimici nell'identificazione e classificazione dei soggetti a rischio elevato

2.1 INTRODUZIONE

La malattia aterosclerotica cardiovascolare è responsabile di circa il 40% delle morti nei paesi industrializzati e sta diventando sempre più importante come causa di morte anche nei paesi in via di sviluppo⁽¹⁾.

Le strategie di prevenzione si basano sul riconoscimento precoce delle cause sottostanti della malattia, riconoscibili nei cosiddetti fattori di rischio.

I fattori di rischio biochimici (lipidici e non lipidici) sono suddivisi tra⁽²⁾:

1. Fattori di rischio maggiori (colesterolo totale e LDL, colesterolo HDL).
2. Fattori emergenti (trigliceridi, lipoproteina(a), remnants delle VLDL, LDL piccole e dense, apolipoproteina A-I e B, omocisteina, indicatori di stato protrombotico, marcatori di flogosi, glucosio). Alcuni fattori di rischio emergenti (trigliceridi, remnants delle VLDL, LDL piccole e dense, indicatori di stato protrombotico, marcatori di flogosi) si trovano aggregati nella sindrome metabolica.

Le Linee guida internazionalmente diffuse e disponibili al momento sono quelle Statunitensi (ATP III)⁽²⁾ o Europee^(3,4). Esse concordemente indicano che la valutazione del rischio va fatta in prevenzione primaria o secondaria. Il razionale, per procedere alla identificazione e classificazione del rischio in prevenzione primaria sta nei risultati di due trial clinici^(5,6) che indicano come una diminuzione del-

la concentrazione del colesterolo LDL porti ad una significativa riduzione del rischio per mortalità cardiovascolare e anche della mortalità totale (**Liv I**).

Analogamente, gli studi in prevenzione secondaria hanno dimostrato che la diminuzione della concentrazione del colesterolo LDL porta, nei pazienti con malattia cardiovascolare, ad una significativa diminuzione di ulteriori eventi cardiovascolari, della mortalità cardiovascolare e della mortalità totale⁽⁷⁻⁹⁾ (**Liv I**).

Mentre ambedue le Linee guida concordano sulla necessità di classificare tutti i pazienti in prevenzione secondaria come soggetti ad alto rischio, alcune indicazioni diverse vengono date per la prevenzione primaria. Le Linee guida Statunitensi⁽²⁾ suggeriscono di eseguire una valutazione del rischio in ogni adulto >20 anni, mentre nelle Linee guida Europee^(3, 4) vengono definite delle priorità precise. In dettaglio, con la priorità più alta vanno investigati i pazienti con malattia cardiovascolare pregressa o in atto. Di seguito i soggetti ad alto rischio per la presenza concomitante di più fattori di rischio; quindi i parenti di primo grado dei pazienti con malattia cardiovascolare ed infine, con la priorità più bassa, i soggetti che entrano in contatto con il sistema sanitario per qualsiasi motivo.

In accordo con le Linee guida Statunitensi si ritiene che, tutti i soggetti con età ≥ 20 anni dovrebbero avere almeno una volta ogni 5 anni una determinazione di un profilo lipidico (colesterolo totale HDL e LDL, trigliceridi) (**Liv II, Forza A**).

2.2 VALUTAZIONE DEL RISCHIO: FATTORI DI RISCHIO MAGGIORI

Negli studi citati⁽⁵⁻⁹⁾ il parametro biochimico considerato è il colesterolo LDL; ne consegue che la valutazione del rischio va fatta utilizzando la concentrazione plasmatica di questo analita.

Tuttavia alcune considerazioni suggeriscono di effettuare la valutazione utilizzando un profilo lipidico completo: colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi⁽²⁻⁴⁾ (**Liv II, Forza A**).

Più precisamente:

1. Qualora la misura del colesterolo LDL venga eseguita con la formula di Friedewald invece che con il metodo diretto (vedi scheda), andranno misurati anche i parametri necessari al suo calcolo (colesterolo totale, HDL, trigliceridi).
2. Il colesterolo HDL è elencato fra i fattori di rischio maggiori.
3. Il colesterolo totale entra nella definizione di alcune carte del rischio e di alcuni algoritmi per il calcolo del rischio.
4. Il colesterolo HDL e i trigliceridi entrano nella definizione della sindrome metabolica.
5. Può presentarsi la necessità di identificare dislipidemie diverse dalla sola ipercolesterolemia.

L'entità del rischio va calcolata utilizzando uno degli strumenti messi a disposizione (carte del rischio, algoritmi)^(2,4,10), preferendo ovviamente quelli basati sulla popolazione italiana⁽¹⁰⁾ (**Liv I, Forza A**). Per gli analiti non strettamente connessi alla valutazione del rischio che non costituiscono target terapeutici (colesterolo HDL, trigliceridi), la valutazione sarà basata sui valori decisionali o desiderabili stabiliti dalle Linee guida esistenti⁽²⁻⁴⁾. I pazienti in prevenzione secondaria ed i diabetici (anche se asintomatici per malattia cardiovascolare) sono considerati tutti a rischio elevato^(2, 11); l'entità del rischio va valutata per orientare il tipo di terapia⁽²⁻⁴⁾ (**Liv I, Forza A**).

2.3 VALUTAZIONE DEL RISCHIO: FATTORI DI RISCHIO EMERGENTI

Trigliceridi

Pur non rientrando tra i fattori di rischio maggiori, la loro misura viene inserita nel profilo di rischio per le ragioni espresse sopra (**Liv II, Forza A**).

Lipoproteina(a)

La posizione di Lp(a) quale predittore di rischio è tuttora controversa per cui se ne sconsiglia la misura nella popolazione generale^(2,12) (**Liv III, Forza D**). Le indicazioni riguardano i pazienti ad elevato rischio a causa della presenza di fattori di rischio maggiori; in particolare nei pazienti con colesterolo LDL e/o apolipoproteina B elevati⁽¹²⁾ (**Liv V, Forza B**).

Apolipoproteina B

È considerata da alcuni Autori un migliore predittore di rischio del colesterolo totale o LDL⁽¹³⁾, in quanto misura il numero di particelle aterogeniche piuttosto che la quantità di colesterolo da esse veicolato. La sua misura tuttavia non viene raccomandata estensivamente, essendo carenti gli studi di intervento che abbiano preso in considerazione apo B quale obiettivo terapeutico⁽²⁾ (**Liv IV**). Un atteggiamento prudente suggerisce la misura di apo B quale fattore di rischio addizionale nei pazienti in prevenzione secondaria che non presentino un aumento dei fattori di rischio tradizionali⁽²⁾ (**Liv III, Forza B**).

Apolipoproteina A-I

Una riduzione di apo A-I è associata ad un aumento del rischio cardiovascolare, ma non indipendentemente dal colesterolo HDL. La sua misura quindi non è consigliata nella popolazione per la valutazione del rischio⁽²⁾ (**Liv III, Forza D**).

Remnants delle VLDL / LDL piccole e dense

Queste alterazioni lipoproteiche sono presenti nella sindrome metabolica e aumentano il rischio cardiovascolare. Tuttavia la loro misura non è facilmente disponibile nei laboratori clinici ed è anche molto poco standardizzata, per cui se ne sconsiglia la determinazione nella popolazione generale⁽²⁾ (**Liv IV, Forza D**).

Omocisteina

La misura dell'omocisteina non viene consigliata nella popolazione generale essendo non completamente provato il suo legame con il rischio cardiovascolare ed essendo carenti gli studi di intervento^(2,14) (**Liv IV, Forza D**). La sua misura viene invece raccomandata nelle persone giovani (<40 anni) con storia personale di patologia cardiovascolare, al fine di escludere una omocistinuria; analogamente viene misurata come fattore di rischio aggiuntivo in pazienti già ad elevato rischio, al fine di provvedere alla diminuzione della sua concentrazione plasmatica con la supplementazione vitaminica^(2,14) (**Liv II, Forza B**).

Indicatori di stato protrombotico

La maggior parte delle sindromi coronariche acute è dovuta a trombosi secondaria a rottura di una placca vulnerabile. Sia le piastrine che i fattori della coagulazione sono coinvolti nel processo; tra questi il fibrinogeno sembra dimostrare l'associazione più forte. Altri fattori caratterizzanti uno stato protrombotico sono il fattore VII attivato, l'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1), l'attivatore tessutale del plasminogeno, l'antitrombina III. Alcuni di questi fattori presentano una concentrazione elevata nella sindrome metabolica. La misura di questi fattori (a parte il fibrinogeno) non è disponibile in tutti i laboratori e manca di standardizzazione; inoltre mancano del tutto gli studi di intervento, se si eccettua quelli che utilizzano farmaci ad azione antiaggregante, per cui la loro misura è sconsigliata nell'ambito della valutazione del rischio⁽²⁾ (**Liv V, Forza D**). Le carte del rischio per la prevenzione secondaria ottenute dallo studio GISSI-prevenzione prevedono la misura del fibrinogeno come fattore aggiuntivo di rischio⁽¹⁵⁾ (**Liv II, Forza C**). Le problematiche connesse alla standardizzazione della misura contribuiscono a ridurne la rilevanza diagnostica.

Proteina C reattiva

Diverse evidenze epidemiologiche indicano che la proteina C reattiva è associata positivamente e fortemente con il rischio cardiovascolare; inoltre in molti studi una elevata concentrazione di proteina C reattiva sembra riflettere la presenza di una placca "instabile".

La sua misura viene sconsigliata nella popolazione generale⁽¹⁶⁾ (**Liv V, Forza C**), mentre viene suggerita nei soggetti a rischio intermedio (tra il 10 e il 20% in 10 anni) in prevenzione primaria, allo scopo di orientare il clinico o verso una valutazione più approfondita del rischio o verso il trattamento⁽¹⁵⁾ (**Liv II, Forza B**). I soggetti con concentrazioni di proteina C reattiva >10 mg/L devono essere esaminati per la ricerca di cause non-cardiovascolari⁽¹⁵⁾ (**Liv II, Forza B**). Nei pazienti con sindrome coronarica acuta o con malattia coronarica già diagnosticata, la proteina C reattiva costituisce un marcatore affidabile di prognosi (morte, infarto miocardico, restenosi dopo angioplastica) (**Liv II**)⁽¹⁵⁾. Non dovrebbero essere usati marcatori di flogosi diversi dalla proteina C reattiva (fibrinogeno incluso)⁽¹⁵⁾ (**Liv IV, Forza D**).

Glucosio

Data la stretta associazione tra concentrazione elevata di glucosio e gli altri fattori di rischio della sindrome metabolica, è difficile considerarlo un fattore di rischio indipendente. Andrebbe quindi misurato, assieme agli altri parametri biochimici, quando si presenti la opportunità di diagnosticare la sindrome metabolica⁽²⁾ (**Liv II, Forza C**).

1. Relazione fra controllo glicemico e rischio cardiovascolare in soggetti già diabetici.

Gli studi epidemiologici hanno accertato che il rischio cardiovascolare è aumentato di 2-3 volte nei soggetti diabetici rispetto ai non diabetici. Non solo lo stato diabetico, ma anche il grado del controllo glicemico, valutato soprattutto attraverso il dosaggio della glicemoglobina,

è di grande importanza nel condizionare lo sviluppo di arteriosclerosi⁽¹⁷⁻²⁰⁾. È stata recentemente dimostrata l'equivalenza, in termini di rischio cardiovascolare, fra un soggetto non diabetico con pregresso infarto ed un diabetico che non ha mai avuto un infarto. Il rischio a 7 anni risulta del 20,2%, intermedio fra il 3,5% di un soggetto senza pregresso infarto e senza diabete e il 45% di un soggetto con pregresso infarto e diabete⁽²¹⁾.

Uno studio di intervento, l'UKPDS⁽²²⁾, ha fornito la documentazione che la riduzione dell'1% della glicemoglobina risultava associata alla riduzione del 14% di infarti cardiaci, fatali e non ($p = 0.0001$) e, in modo analogo, di altre complicanze cardio-vascolari. Una recentissima revisione dell'UKPDS⁽²³⁾ ha permesso la misura del rischio di mortalità per infarto sulla base dei livelli di glicemoglobina, misurati anni prima dell'evento: il rischio aumentava del 17% per ogni 1% di aumento di glicemoglobina. Sulla base di questi dati sono stati sviluppati algoritmi per il calcolo del rischio⁽²⁴⁾.

2. Relazione fra valori glicemici a digiuno (e/o dopo carico di glucosio) e rischio cardiovascolare in soggetti non ancora francamente diabetici.

Esiste una relazione fra livello glicemico e rischio cardio-vascolare anche in soggetti non ancora diabetici, allo stadio di intolleranza glicemica o addirittura normali⁽²⁵⁻²⁹⁾. La più valida spiegazione fisiopatologica oggi prospettata è che la precoce alterazione del metabolismo glucidico rappresenti solo una spia di un disturbo metabolico più ampio, oggi etichettato come sindrome metabolica, o sindrome da resistenza insulinica (vedi sindrome metabolica).

Nel 1997 l'American Diabetes Association ha rivisto i criteri per la diagnosi di diabete⁽³⁰⁾. La nuova classificazione identificava una nuova tipologia di soggetti, deno-

minata IFG (Impaired Fasting Glucose), individuata da un intervallo glicemico compreso fra 110 e 125 mg/dl. Fra i vari motivi che giustificavano questa revisione vi era la sopravvenuta documentazione epidemiologica di un aumento della prevalenza di retinopatia diabetica in soggetti con valori glicemici a digiuno a partire da 126 mg/dl. Questo nuovo intervallo glicemico, intermedio fra normalità e diabete, è stato inizialmente considerato analogo all'intervallo di 140-200 mg/dl riferito alla seconda ora dopo OGTT, che ha sempre identificato lo stato di intolleranza glicemica (IGT). Lo studio DECODE⁽³¹⁾ dimostrava una mancata identità fra intervalli glicemici di base e dopo carico di glucosio. Solo il 28% dei soggetti risultava diabetico con entrambi i criteri, il 40% risultava diabetico solo con la glicemia a digiuno, ed il 31% solo con il carico di glucosio. Il grado di disaccordo aumentava inoltre con l'aumentare del BMI e dell'età e faceva comprendere come glicemia a digiuno o glicemia dopo 2 ore dopo OGTT non esprimessero lo stesso significato metabolico. Dato confermato anche da studi successivi⁽³²⁾. Il livello di rischio cardio-vascolare potrebbe essere diverso per i due gruppi, ma, anche se uno studio⁽³³⁾ lo farebbe sospettare, oggi non ci sono prove sufficienti per inserire l'OGTT fra i test per la valutazione del rischio cardio-vascolare. Inoltre il limite superiore della glicemia a digiuno è stato recentemente ridotto a 100 mg/dl⁽³⁴⁾ e non è ancora possibile dire se questa variazione comporterà un maggior livello di sovrapposizione fra le categorie di pazienti IFG e IGT, categorie che sono comunque definite entrambe come stato "prediabetico"⁽³⁵⁾.

Seguendo le indicazioni dell'American Diabetes Association⁽³⁶⁾, si ritiene opportuno raccomandare di iniziare lo screening della glicemia a digiuno dall'età di 45 anni e di continuarlo con cadenza triennale (**Liv V, Forza B**).

L'inizio dello screening in età più giovane è consigliato in caso di presenza di una o più delle seguenti condizioni (**Liv V, Forza B**):

- BMI > 25;
- familiarità diabetica nei genitori o collaterali;
- inattività fisica;
- documentato pregresso IFG o IGT;
- pregresso diabete gestazionale o di neonati con peso alla nascita >4,5 kg;
- valori pressori >140/90;
- colesterolo HDL <35 mg/dl e/o trigliceridi >250 mg/dl;
- ovaio policistico;
- patologia vascolare in atto.

Sindrome metabolica

È caratterizzata da una costellazione di fattori di rischio che si raggruppano in un individuo ed è legata al disordine metabolico denominato "insulino-resistenza". Sebbene non vi siano criteri universalmente accettati per la diagnosi della sindrome metabolica, viene comunemente accettato che la presenza contemporanea di tre o più dei seguenti criteri identifichi con sufficiente accuratezza la sindrome metabolica: obesità addominale, trigliceridi >150 mg/dL (1.70 mmol/L), colesterolo HDL <50 mg/L (1.29 mmol/L) se femmine o <40 mg/dL (1.04 mmol/L) se maschi, ipertensione, glucosio >110 mg/dL (6.1 mmol/L). La presenza della sindrome metabolica aumenta il rischio associato ad un dato livello di colesterolo LDL e l'aumento sembra mediato dai fattori di rischio definiti "emergenti"⁽²⁾ (**Liv II**).

La presenza della sindrome metabolica deve indurre ad un trattamento più incisivo della ipercolesterolemia e alla correzione dei fattori di rischio associati alla sindrome metabolica stessa⁽²⁾ (**Liv III**). La misura di colesterolo HDL, trigliceridi e glucosio viene quindi suggerita per i soggetti per i quali, a giudizio del curante, debba essere fatta diagnosi di sindrome metabolica⁽²⁾ (**Liv II, Forza C**); la mi-

sura degli altri parametri (remnants delle VLDL, LDL piccole e dense, indicatori di stato protrombotico, marcatori di flogosi) viene invece sconsigliata ai fini diagnostici⁽²⁾ (**Liv III, Forza D**).

2.4 MONITORAGGIO

Colesterolo totale, LDL, HDL e trigliceridi

Nei soggetti che le carte del rischio o l'algoritmo pongono a basso rischio (<5%), il profilo lipidico andrebbe ripetuto ogni 5 anni^(2, 4) (**Liv I, Forza A**). Per i soggetti con rischio >5%, la misura dovrebbe essere ripetuta 3 mesi dopo aver modificato lo stile di vita e dopo un anno dal raggiungimento degli obiettivi^(2, 4) (**Liv I, Forza A**). Per i pazienti in terapia o in prevenzione secondaria sarà necessario programmare il monitoraggio tenendo conto delle caratteristiche del farmaco impiegato e dell'analita sul quale il farmaco agisce.

Lp(a)

Stante il forte determinismo genetico della concentrazione della proteina, e la scarsità dei mezzi a disposizione per ridurre la sua concentrazione sierica, non esistono raccomandazioni per misure ripetute⁽¹²⁾ (**Liv V, Forza D**).

Omocisteina

In condizioni di stabilità metabolica, viene raccomandata l'esecuzione del test ogni 3-5 anni⁽¹⁴⁾. É da tenere presente tuttavia che la supplementazione vitaminica modifica i valori di omocisteina abbastanza rapidamente (**Liv V, Forza D**).

Proteina C reattiva

Per una ottimale valutazione del rischio, considerando la variabilità intraindividuale della proteina, viene consigliato di misurare la proteina in due diverse occasioni, a due settimane di distanza, e di utilizzare la media dei due valori^(16,37) (**Liv II, Forza B**). É doverosa la ripetizione dell'esa-

me nei soggetti con valori particolarmente elevati di proteina C reattiva (>10 mg/L) (16) (**Liv II, Forza A**).

VALUTAZIONE DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE	
Esami di cui è raccomandata l'esecuzione routinaria	
Forza della Raccomandazione A	
	Colesterolemia totale
	Colesterolemia HDL
	Colesterolemia LDL
	Trigliceridemia

BIBLIOGRAFIA

1. Lopez AD, Murray CC. *The global burden disease. 1990-2020*. Nat Med 1998; 4:1241-3.
2. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). *Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III): Final Report*. Circulation 2002; 106:3143-421.
3. Task Force Report. *Prevention of coronary heart disease in clinical practice: Recommendations of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention*. Atherosclerosis 1998; 140:199-270.
4. Executive Summary. *European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third joint task force of European and other Societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice*. Eur Heart J 2003; 24:1601-10.
5. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. for the West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group (WOSCOP)*. N Engl J Med 1995; 333:1301-7.
6. Downs JR, Clearfield M, Weis S, et al. for the AFCAPS/TexCAPS Research group. *Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS*. JAMA 1998; 279:1615-22.
7. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. *Randomized trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S)*. Lancet 1994; 344:1383-9.
8. Sacks FM, Pfeffer MA, Moya LA, et al. for the Cholesterol and Recurrent Events Trial Investigators. *The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels (CARE)*. N Engl J Med 1996; 335:1005-9.
9. Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease

- (LIPID) Study group. *Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol level*. N Engl J Med 1998; 339:1349-57.
10. Progetto Cuore. Istituto Superiore di Sanità. http://www.cuore.iss.it/val_rischio/carte-rischio-cardio.htm (05/07/2004).
11. American Diabetes Association. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care 2004; 27(Supl1)S5-S14.
12. Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, et al. *Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and cardiovascular disease: recent advances and future directions*. Clin Chem 2003; 49:1785-96.
13. Sniderman AD. *How, when and why to use apolipoprotein B in clinical practice*. Am J Cardiol 2002; 90:48i-54i.
14. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, et al. *Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion*. Clin Chem 2004; 50:3-32.
15. Marchioli R, Valagussa F. *The results of the GISSI-Prevenzione trial in the general framework of secondary prevention*. Eur Heart J 2000; 21:949-52.
16. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. *Markers of inflammation and cardiovascular disease. Application to clinical and public health practice. A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association*. Circulation 2003; 107:499-511.
17. Kuusisto J, Mykkanen L, Pyorola K, Laakso M. *NIDDM and its metabolic control predict coronary heart disease in elderly subjects*. Diabetes 1994; 43:960.
18. Klein R. *Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes*. Diabetes Care 1995; 18:258.
19. Laakso M, Kuusisto J. *Epidemiological evidence for the association of hyperglycemia and atherosclerotic vascular disease in NIDDM*. Ann Med 1996; 28:415.
20. Lehto S, Ronnemaa T, Haffner SM, et al. *Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in mid-*

- dle-aged patients with NIDDM. Diabetes* 1997; 46:1354.
21. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, et al. *Mortality from Coronary Heart Disease in Subjects with Type 2 Diabetes and in Nondiabetic Subjects with and without Prior Myocardial Infarction. N Engl J Med* 1998; 339:229.
 22. Stratton IM, Adler AI, Neil AW, et al. *Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. Brit Med J* 2000; 321:405.
 23. Stevens RJ, Coleman RL, Adler AI, et al. *Risk factors for myocardial infarction case fatality and stroke case fatality in type 2 diabetes. Diabetes Care* 2004; 27: 201-7.
 24. <http://www.dtu.ox.ac.uk/riskengine/>.
 25. Pan WH, Cedres LB, Liu K, et al. *Relationship of clinical diabetes and asymptomatic hyperglycemia to risk of coronary heart disease mortality in men and women. Am J Epidemiology* 1986; 123:504.
 26. Pyöälä K, Salvolainen E, Lethovirta E, et al. *Glucose tolerance and coronary heart disease: the Helsinki Policemen study. J Chronic Dis* 1979; 32:729.
 27. Fuller JH, Shipley MJ, Rose G, et al. *Mortality from coronary heart disease and stroke in relation to degree of glycaemia: the Whitehall study. Brit Med J* 1983; 867.
 28. Eschwege E, Richard JL, Thibault N, et al. *Coronary heart disease mortality in relation with diabetes, blood glucose and plasma insulin levels: the Paris Prospective Study, ten years later. Horm Metab Res* 1985; Suppl. 15:51.
 29. Björnholt JV, Erikssen G, Aaser E, et al. *Fasting blood glucose: an underestimated risk factor for cardiovascular death. Results from a 22-year follow-up of healthy nondiabetic men. Diabetes Care* 1999; 22:45.
 30. National Diabetes Data Group. *Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report. Diabetes Care* 1997; 20:1183.
 31. Diabetes Epidemiology Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe (Decode Study Group). *Will new diagnostic criteria for diabetes mellitus change phenotype of pa-*

- tients with diabetes? Reanalysis of European epidemiological data.* Brit Med J 1998; 317:371.
32. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KGMM. *Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention.* Diabet Med 2002; 19, 708.
33. Shaw JE, Hodge AM, de Courten M, et al. *Isolated post-challenge hyperglycemia confirmed as a risk factor for mortality.* Diabetologia 1999; 42:1050.
34. The Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus.* Diabetes Care 2003; 26:3160.
35. *Standards of medical care in diabetes.* American Diabetes Association. Diabetes Care 2004; 27, suppl 1, S 15.
36. *Screening for Type 2 Diabetes.* Diabetes Care 2004; 27, suppl 1, S11.
37. Ockene IS, Matthews CE, Rifai N, et al. *Variability and classification accuracy of serial high-sensitivity C-reactive protein measurements in healthy adults.* Clin Chem 2001; 47:444-50.

3. Parametri di laboratorio nelle sindromi coronariche acute

3. Parametri di laboratorio nelle sindromi coronariche acute

Le sindromi coronariche acute rappresentano una delle più frequenti cause di ricovero ospedaliero nel mondo occidentale. Alcuni parametri di laboratorio, i markers biochimici di necrosi cellulare miocardica, hanno assunto primaria rilevanza nel processo decisionale delle forme acute della cardiopatia ischemica, in particolare per la diagnosi di infarto miocardico e per la scelta dell'indirizzo terapeutico nelle sindromi coronariche acute senza elevazione del tratto ST.

La letteratura recente ha però sottolineato come altri parametri di laboratorio forniscano informazioni molto utili per una stratificazione prognostica precoce o per evitare pericolose complicanze nel decorso clinico intraospedaliero. Alcuni di questi parametri, come ad esempio quelli indicativi della presenza di insufficienza renale o di diabete, hanno una importanza anche ai fini della scelta del percorso clinico-terapeutico.

I parametri di laboratorio descritti qui di seguito devono essere rilevati all'ingresso del paziente in Ospedale e, successivamente, ad intervalli di tempo che vengono suggeriti per ogni singolo parametro.

Rispetto ad ogni singolo parametro vengono inoltre qui sotto indicati anche il livello di prova e la forza delle raccomandazioni, espresse secondo le raccomandazioni del

Manuale Metodologico del Progetto Nazionale Linee Guida dell'ASSR. Nella redazione del testo si è tenuto conto delle raccomandazioni delle Linee guida di riferimento per le sindromi coronariche acute, che sono le Linee guida Europee e quelle Nordamericane. Le società scientifiche cardiologiche italiane (Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri e Società Italiana di Cardiologia), dal 2000 non sviluppano Linee guida proprie, ma si rifanno in prima istanza alle Linee guida Europee.

3.1 MARCATORI BIOCHIMICI DI NECROSI MIOCARDICA NELLE SINDROMI CORONARICHE ACUTE

L'evoluzione delle conoscenze sull'eziologia, patogenesi e fisiopatologia della cardiopatia ischemica ha consentito di definire con sicura evidenza che tutte le manifestazioni cliniche comprese con il termine "sindrome coronarica acuta" non rappresentano entità distinte e separate, ma unificate dallo stesso substrato anatomico e da meccanismi fisiopatologici comuni.

Da tale presupposto derivano le proposte recentemente emanate dalle Società Scientifiche di cardiologia e di medicina di laboratorio relativamente al dosaggio di marcatori biochimici di danno miocardico.

In particolare:

1. Diagnosi d'emergenza in pazienti con dolore toracico.

In questo gruppo di pazienti, essendo variabile l'intervallo di tempo trascorso tra l'inizio del dolore e la presentazione in Pronto Soccorso o in un Dipartimento di Emergenza, si ritiene necessaria la determinazione di due marcatori biochimici che, in assenza di segni strumentali dirimenti, consentano di effettuare una diagnosi precoce. Attualmente la **mioglobina** è il marcatore biochimico che più efficacemente svolge il ruolo di marcatore precoce, poiché aumenta in circolo 1-2 ore dopo l'inizio dei sinto-

mi e risulta quindi fondamentale nell'esclusione dell'infarto miocardico acuto. Data la sua insufficiente miocardio-specificità, la sua determinazione va sempre associata a quella delle **troponine (I o T)**, marcatori biochimici di assoluta cardiospecificità^(1,2).

La tempistica di prelievo raccomandata prevede un prelievo all'ammissione e i successivi ad intervalli di 2-4 ore dall'inizio del dolore. La necessità di una maggiore rapidità nell'escludere la diagnosi di IMA, suggerirebbe l'effettuazione di un prelievo a tempi ravvicinati (90 min) rispetto al basale, per consentire la valutazione del Δ di **mioglobina**.

Le evidenze^(1,3) portano a raccomandare l'eliminazione della richiesta di parametri obsoleti quali CK totale, AST, LDH che non solo non aggiungono informazioni utili, ma possono anzi rendere problematico il ragionamento clinico dato che presentano caratteristiche di sensibilità e specificità significativamente inferiori ai marcatori di scelta (troponine).

In conclusione, la diagnosi di urgenza, dal punto di vista del laboratorio, risulta semplificata e, schematicamente, prevede due possibili strategie:

- a) Uso del solo marcatore specifico (troponine), specialmente nei casi in cui il paziente si presenti a distanza dall'insorgenza del dolore (dopo le tre ore), o nel caso la politica di gestione del paziente da parte del Pronto Soccorso preveda un'osservazione prolungata. La tempistica di prelievo richiede l'esecuzione di un basale (ammissione), ed uno ulteriore dopo 6-9 ore. Infine, va ripetuto tardivamente, dopo 12-24 ore, un ulteriore prelievo per la prognosi e stratificazione del rischio.
- b) Uso combinato del marcatore precoce (mioglobina) in associazione a quello specifico (troponina), specialmente se il triage del paziente richiede tempistiche rapide e se il tempo di insorgenza del dolore risulti rav-

vicinato. In questo caso, alle tempistiche precedenti va aggiunto un prelievo ravvicinato dopo 90 min dall'ammissione.

2. Monitoraggio del paziente e stratificazione del rischio.

La stratificazione precoce del rischio prevede la determinazione della troponina che, dagli studi condotti, si è dimostrata essere il marcatore biochimico di elezione. Il monitoraggio biochimico va prolungato almeno fino alle 6-12 ore dall'ammissione. Nel caso il laboratorio non rendesse disponibile tale determinazione, può essere considerata accettabile quella del CK-MB di massa. Le evidenze raccolte hanno portato alla definizione della Linea guida emanata dall'ACC/AHA nel 2000^(4,5).

3. Caratteristiche di performance e criteri di interpretazione dei risultati.

a) *Tempo di risposta.* Vi è un generale consenso sulla raccomandazione di contenere il tempo di risposta (TAT) delle analisi biochimiche entro 60 minuti (dal momento del prelievo alla consegna del risultato). Nel caso questi tempi non siano assicurati, è da considerare l'introduzione di un POCT.

DIAGNOSTICA DOLORE TORACICO MARCATORI BIOCHIMICI DI NECROSI MIOCARDICA	
Forza della Raccomandazione A	
	Mioglobina
	Troponina

b) *Prestazioni analitiche.* Per la troponina, per la quale non esistono intervalli di riferimento per il normale, il goal analitico è costituito da un'impresione (CV%) <10% al livello decisionale che, nel documento di consenso⁽¹⁾, viene definito come il 99 percentile dei valori osservati in una popolazione di riferimento. Nel documento emanato dal Gruppo di Studio Intersocietario ANMCO/SIBioC/SIC/SIMeL⁽⁶⁾, il criterio decisionale

è stato rivisto. Infatti, dati i limiti degli immunodosaggi attuali che non consentono di raggiungere il goal analitico sopra descritto, è stata raccomandata l'adozione come livello decisionale, della concentrazione di troponina alla quale il metodo dimostri un'imprecisione $<10\%$. Per la CK-MB, il valore decisionale è rappresentato dalla concentrazione che supera il 99 percentile dei valori di un gruppo di riferimento su due campioni consecutivi, oppure un valore superiore di due volte al limite stesso in un'occasione, sempre entro le 24 ore. Per la mioglobina e la CK-MB, valgono le specifiche di qualità fissate sulla base della variabilità biologica ($CV < 5.6\%$, 9.2% , rispettivamente).

- c) *Interpretazione dei risultati.* Secondo la raccomandazione ACC/ESC, la diagnosi biochimica di infarto miocardico viene posta in relazione ad un aumento di troponina che superi il livello decisionale in almeno un'occasione durante le prime 24 ore dall'evento clinico. La diagnosi di infarto miocardico acuto, in assenza di modificazioni elettrocardiografiche evolutive da ischemia acuta, si dovrà tuttavia basare sull'andamento temporale delle concentrazioni dei marcatori di danno miocardico. In questo caso, la determinazione della troponina è più utile di quella della CK-MB poiché la positività di tale determinazione consente di identificare un sottogruppo di pazienti ad elevato rischio di eventi cardiaci maggiori, rispetto ai pazienti con troponina negativa.

3.2 PARAMETRI DI LABORATORIO NON MARCATORI DI NECROSI

Creatininemia

Inserito tra le variabili del MDS italiano per il Registro delle SCA e nella scheda ACS Europea.

Per quanto parametro non ineccepibile come indicatore del

livello di insufficienza renale, la creatininemia possiede un valore prognostico indipendente in tutte le sindromi coronariche acute (Infarto miocardico acuto ad ST in alto persistente, Infarto miocardico acuto senza ST in alto persistente, Angina instabile). Essa ha una relazione lineare con la mortalità a breve, medio e lungo termine ed il suo significato prognostico è confermato anche per l'IMA STE trattato con angioplastica primaria.

Nelle sindromi coronariche acute ospedalizzate la sua monitoraggio è necessaria con intervalli di tempo giornalieri. Ciò anche alla luce della possibilità che gli stati di bassa portata o le frequenti procedure diagnostiche e terapeutiche invasive con uso di mezzo di contrasto possano deteriorare la funzione renale (**Liv I, Forza A**).

Indicazione specifica alla sua rilevazione è contenuta nelle LG ACC/AHA AMI 2004 in Classe I (condizione in cui vi è evidenza e/o accordo generale che una procedura o un trattamento siano benefici, utili ed efficaci)⁽⁷⁻⁹⁾.

Glicemia

Inserita tra le variabili del MDS per il Registro Italiano delle SCA e nella scheda ACS Europea.

Il livello di glicemia all'ingresso possiede un valore prognostico indipendente nell'IMA STE.

Esso ha una relazione lineare con la mortalità a breve e medio termine.

Il suo significato prognostico è confermato anche nell'IMA trattato con angioplastica primaria.

La sua monitoraggio è necessaria nel tempo con cadenza dei prelievi dipendente dal livello iniziale. Vi è infatti necessità di controlli ravvicinati se i primi valori sono elevati e se è necessaria una terapia ipoglicemizzante intensiva (**Liv I, Forza A**).

Vi sono indicazioni consistenti sul fatto che il trattamento ipoglicemizzante intensivo con insulina all'ingresso e poi con somministrazioni refratte di insulina sotto cute dopo la

fase acuta e nel medio periodo, migliori la prognosi a medio termine dei soggetti con sindrome coronarica acuta.

Indicazione specifica alla sua rilevazione è contenuta nelle LG ACC/AHA AMI 2004 in Classe I^(10,11).

Esame Emocromocitometrico

Inserita tra le variabili del MDS per il Registro Italiano delle SCA e nella scheda ACS Europea Indicazione specifica alla sua rilevazione è contenuta nelle LG ACC/AHA AMI 2004 in Classe I (condizione in cui vi è evidenza e/o accordo generale che una procedura o un trattamento siano benefici, utili ed efficaci) (**Liv I, Forza A**).

La **leucocitosi** nell'IMA STE ha valore prognostico indipendente essendo in rapporto con l'estensione della necrosi miocardica.

La leucocitosi ha una relazione lineare con la mortalità a breve termine.

Importanza dell'**Hb**, **HCT** e **GR** in corso di terapia anticoagulante con eparina non frazionata o eparina a basso peso molecolare per la frequenza dei sanguinamenti maggiori e minori.

Importanza della **conta piastrinica** in corso di terapie antiaggreganti (clopidogrel, Anti GP IIb/IIIa).

In caso di piastrinopenia è utile ripetere la conta in citrato per escludere piastrinopenia apparente^(12,13).

Elettroliti (sodio, potassio, cloro, magnesio)

Inserita tra le variabili del MDS per il Registro Italiano delle SCA e nella scheda ACS Europea.

Indicazione specifica alla sua rilevazione è contenuta nelle LG ACC/AHA AMI 2004 in Classe I (condizione in cui vi è evidenza e/o accordo generale che una procedura o un trattamento siano benefici, utili ed efficaci) (**Liv I, Forza A**).

L'equilibrio elettrolitico, ed in particolare la potassiemia, è fondamentale per la prevenzione delle complicanze aritmiche delle sindromi coronariche acute ed in primo luogo del-

la fibrillazione ventricolare e della tachicardia ventricolare sostenuta. L'ipomagnesiemia è alla base della genesi di tachicardie ventricolari complesse come la torsione di punta⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

PTT ed INR

Inserite tra le variabili del MDS per il Registro Italiano delle SCA e nella scheda ACS Europea.

Indicazione specifica alla loro rilevazione è contenuta nelle LG ACC/AHA AMI 2004 in Classe I (condizione in cui vi è evidenza e/o accordo generale che una procedura o un trattamento siano benefici, utili ed efficaci) (**Liv I, Forza A**). Parametri fondamentali per la monitorizzazione del trattamento anticoagulante eparinico e. v. e con dicumarolici.

Assetto lipidico (colesterolemia totale, HDL, LDL e trigliceridemia)

Inserite tra le variabili del MDS per il Registro Italiano delle SCA e nella scheda ACS Europea.

Indicazione specifica alla loro rilevazione è contenuta nelle LG ACC/AHA AMI 2004 in Classe I (**Liv I, Forza A**). La loro rilevazione è da effettuare all'ingresso poiché dopo la prima giornata vi è una riduzione significativa dei livelli plasmatici.

Indicazioni da studi clinici randomizzati sembrano confermare che la riduzione della colesterolemia con l'uso precoce di statine ad alte dosi possa migliorare la prognosi a medio termine dopo una sindrome coronarica acuta⁽¹⁹⁾.

PCR (Proteina C Reattiva)

Utilizzato nel MDS italiano.

Indicatore di infiammazione. Valore prognostico a lungo termine nelle SCA. Variabile con relazione lineare con la mortalità a lungo termine^(20,21) (**Liv II, Forza B**).

ESAMI DI LABORATORIO NELLE SINDROMI CORONARICHE ACUTE	
Forza della Raccomandazione A	
	Creatininemia
	Glicemia
	Esame emocromocitometrico
	Elettroliti plasmatici
	Tempo di tromboplastina parziale (PTT)
	Tempo di protrombina (TP/INR)

BIBLIOGRAFIA

1. National Academy of Clinical Biochemistry. *Standards of Laboratory Practice: Recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases*. Clin Chem 1999; 45: 1104-21.
2. Zaninotto M, Altinier S, Lachin M, et al. *Strategies for the early diagnosis of acute myocardial infarction using biochemical markers*. Am J Clin Pathol 1999; 111:399-405.
3. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. *Myocardial infarction redefined. A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redifinition of Myocardial Infarction*. JACC 2000; 36: 959-69.
4. ACC/AHA Guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-Segment Elevation. *Myocardial infarction: Executive summary and recommendations*. Circulation 2000; 102:1193-1209.
5. Plebani M, Zaninotto M. *Guidelines for acute coronary syndrome without ST elevation*. Lancet 2002; 359:1349-50.
6. Galvani M, Panteghini M, Ottani F, et al. *"La nuova definizione di infarto miocardico". Analisi del documento di consenso ESC/ACC e riflessioni sulla applicabilità alla realtà sanitaria italiana*. IHJ Suppl 2002; 3:955-70.
7. Suwaidi JA, Reddan DN, Williams K, et al. for the GUSTO-IIb, GUSTO-III, PURSUIT, and PARAGON-A Investigators. *Prognostic Implications of Abnormalities in Renal Function Patients With Acute Coronary Syndromes*. Circulation 2002; 106(8):974-80.
8. Sadeghi M, Stone GW, Grines CL, et al. *Impact of Renal Insufficiency in Patients Undergoing Primary Angioplasty for Acute Myocardial Infarction*. Circulation 2003; 108(22):2769-75. Epub 2003 Nov 24.
9. Craig R, Walsh C J, O'Donnell CA, et al. *Elevated serum creatinine is associated with 1-year mortality after acute myocardial infarction*. Am Heart J 2002; 144(6):1003-11.

10. Foo K, Cooper J, Deaner A, et al. *A single serum glucose measurement predicts adverse outcomes across the whole range of acute coronary syndromes.* Heart 2003; 89:512-516.
11. Malberg K, Norhammar A, Wedel H, Ryden L. *Glycometabolic state at admission: important risk marker of mortality in conventionally treated patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction: long-term results from the Diabetes and Insulin-Glucose Infusion in Acute Myocardial Infarction (DIGAMI) study.* Circulation 1999; 99(20):2626-32.
12. Menon V, Lessard D, Yarzebski J, et al. *Leukocytosis and adverse hospital outcomes after acute myocardial infarction.* Am J Cardiol 2003; 92(4):368-72.
13. Barron HV, Cannon CP, Murphy SA, et al. *Association between white blood cell count, epicardial blood flow, myocardial perfusion, and clinical outcomes in the setting of acute myocardial infarction: a thrombolysis in myocardial infarction 10 substudy.* Circulation 2000; 102(19):2329-34.
14. Oliver MF. *Metabolic causes and prevention of ventricular fibrillation during acute coronary syndromes.* Am J Med 2002; 112(4):305-11.
15. Hennekens CH, Albert CM, Godfried SL, et al. *Adjunctive drug therapy of acute myocardial infarction-evidence from clinical trials.* N Engl J Med 1996; 335(22):1660-7.
16. Reeder GS. *Adjunctive therapy in the management of patients with acute myocardial infarction.* Mayo Clin Proc 1995 May; 70(5):464-8.
17. Anand SS, Yusuf S, Pogue J, et al. *Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes Investigators. Relationship of activated partial thromboplastin time to coronary events and bleeding in patients with acute coronary syndromes who receive heparin.* Circulation 2003 17; 107(23):2884-8.
18. Lee MS, Wali AU, Menon V, et al. *The determinants of activated partial thromboplastin time, relation of activated partial thromboplastin time to clinical outcomes, and optimal*

- dosing regimens for heparin treated patients with acute coronary syndromes: a review of GUSTO-IIb.* J Thromb Thrombolysis 2002; 14(2):91-101.
19. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, et al. *For the Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy - Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 Investigators. Comparison of Intensive and Moderate Lipid Lowering with Statins after Acute Coronar Syndromes.* N Engl J Med 2004; 350.
 20. Toss H, Lindahl B, Siegbahn A, Wallentin L. *Prognostic influence of increased fibrinogen and C-reactive protein levels in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease.* Circulation 1997; 96:4204-10.
 21. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. *Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. Multiple Risk Factor Intervention.* Trial Am J Epidemiol 1996; 144:537-47.

4. Diagnostica di laboratorio dello scompenso cardiaco acuto e cronico

4. Diagnostica di laboratorio dello scompenso cardiaco acuto e cronico

4.1 EPIDEMIOLOGIA DELL'INSUFFICIENZA CARDIACA

L'insufficienza cardiaca è una patologia di particolare frequenza nella popolazione ed è anche la più frequente causa di ospedalizzazione nella popolazione anziana. L'epidemiologia dello scompenso in Italia ed in Europa è scarsamente analizzata nella sua completezza. Indubbiamente questa patologia è in aumento sia per il numero di pazienti affetti sia per i costi assistenziali che ne derivano; in genere si ritiene che circa il 2-3% della popolazione ne sia affetta con una sopravvivenza del 50% a quattro anni. É considerata la causa più frequente di ospedalizzazione nella popolazione anziana e dei conseguenti DRG prodotti⁽¹⁾.

4.2 BNP E SCOMPENSO CARDIACO

Lo scompenso cardiaco si verifica quando un'alterazione della funzionalità cardiaca non permette al cuore di pompare sangue in quantità sufficiente a soddisfare le richieste metaboliche o a mantenere una gittata cardiaca adeguata, se non con un aumento della pressione di riempimento. Clinicamente è caratterizzato da mancanza di respiro, intolleranza allo sforzo, ritenzione di liquidi e ridotta sopravvivenza. Può essere dovuto a disfunzione sistolica o diastolica e sono presenti alterazioni neuroendocrine⁽²⁾. Si parla di disfunzione sistolica ventricolare sinistra quando la frazio-

ne di eiezione del ventricolo sinistro è inferiore a 0,40. Può essere sintomatica o asintomatica e da questo punto di vista può essere difficile definire e diagnosticare lo scompenso cardiaco diastolico. Tra i criteri proposti recentemente, vengono inclusi i segni di: scompenso cardiaco, funzione diastolica del ventricolo sinistro normale o lievemente alterata, anomalie del riempimento e del rilasciamento del ventricolo sinistro, del rilasciamento diastolico o della rigidità diastolica⁽³⁾. L'utilità clinica di questi criteri è limitata dalle difficoltà inerenti alla standardizzazione delle misure di valutazione.

Il BNP (Brain Natriuretic Peptide), così denominato perchè originariamente rinvenuto nel cervello di maiale (anche se prodotto prevalentemente nei ventricoli cardiaci), viene sintetizzato sotto forma di pro-ormone denominato appunto proBNP. Dopo stimolazione dei cardiomiociti, a seguito della distensione delle pareti ventricolari, il proBNP viene rilasciato in circolo ed immediatamente scisso da una proteasi nel frammento N-Terminal proBNP (NT-proBNP) e nel peptide BNP, biologicamente attivo. L'emivita in vivo di NT-proBNP è di circa 60-120 minuti ed è pertanto più elevata rispetto a quella di BNP che è inferiore ai 20 minuti⁽⁴⁾. Numerosi studi hanno evidenziato come la concentrazione di BNP e di NT-proBNP risulti significativamente aumentata nei pazienti con disfunzione ventricolare, e come il livello di questo marcatore risulti essere direttamente correlato con la gravità dello scompenso cardiaco (classe NYHA). Poiché è stato dimostrato come il 50% circa dei soggetti con insufficienza respiratoria presenti sintomi del tutto simili a quelli dello scompenso cardiaco, pur in totale assenza di una patologia cardiaca, diviene spiegabile come mai una elevata percentuale delle diagnosi iniziali di scompenso cardiaco non risulti poi confermata dagli accertamenti diagnostici strumentali più approfonditi successivamente eseguiti. Ne consegue come la diagnosi, quando si basi solo sulla presenza di sintomi clinici, sia spesso difficile con

la conseguenza di indirizzare i pazienti ad ulteriori accertamenti cardiologici, o di sottoporre i pazienti stessi ad una specifica terapia per lo scompenso⁽⁵⁾, benché esenti da una qualsiasi disfunzione cardiaca.

É opinione generalmente accettata che la diagnosi di questa patologia debba essere posta valutando la complessità della condizione clinica sul paziente piuttosto che utilizzando una singola indicazione derivante da un solo test diagnostico. I test diagnostici di laboratorio hanno il compito di fornire informazioni utili da integrare nel complesso del percorso diagnostico terapeutico, per aiutare a diagnosticare correttamente sia la presenza della patologia, esplorandone le possibili cause e reversibilità, sia a valutare il grado di severità e rischio di progressione della stessa, per essere utile strumento a guida dell'ottimale trattamento farmacologico.

4.3 I TEST PROPOSTI PER LA VALUTAZIONE DELL'INSUFFICIENZA CARDIACA

Molti sono i test proposti per esplorare la condizione di insufficienza cardiaca. Alcuni, come l'esame per emocromo citometrico, la creatininemia, gli elettroliti plasmatici, la determinazione degli ormoni tiroidei, l'albuminemia, sono di uso routinario nella diagnostica di laboratorio; altri sono stati proposti più recentemente per questa patologia. I più comuni test sono elencati nella tabella in fondo al paragrafo.

4.3.1 ESAMI TRADIZIONALI

Esame emocromocitometrico

É indicata l'esecuzione dell'emocromo poiché i risultati di numerosi studi confermano che l'anemia è di frequente riscontro, è correlata al grado di severità dello scompenso e può causare grave peggioramento della capacità funzionale (Liv III, Forza A).

L'anemia può aggravare una cardiopatia preesistente ed influenzare negativamente la prognosi per cui è stata identificata come fattore indipendente di mortalità e morbidità nei pazienti con scompenso cardiaco.

Benché fino ad oggi numerose survey e trial clinici osservazionali abbiano riportato la prevalenza dell'anemia in pazienti con scompenso cardiaco, i risultati tuttavia, sono ampiamente differenti a causa della definizione di anemia e della popolazione in studio. La definizione di anemia più comunemente accettata è quella dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO), che considera anemia i valori di emoglobina Hb <13 g/dl nei maschi e Hb <12 g/dl nelle femmine.

Negli ultimi anni è stata rivolta significativa attenzione all'anemia nei pazienti con scompenso cardiaco cronico. È noto infatti che una condizione di anemia determina adattamenti emodinamici cui conseguono ipertrofia ventricolare sinistra, intolleranza allo sforzo ed insufficienza cardiaca.

La prevalenza dell'anemia nei pazienti con scompenso nei trial più recenti è molto variabile: 4%-55,6%, in funzione del valore soglia di anemia⁽⁶⁾.

Il valore soglia più comunemente accettato per definire l'anemia è Hb <12 g/dl. In generale, la prevalenza dell'anemia è maggiore nelle casistiche di pazienti non selezionati, mentre è inferiore nei pazienti arruolati nei trial clinici. Inoltre pazienti ospedalizzati per instabilizzazione dello scompenso cardiaco hanno gradi maggiori di anemia rispetto a pazienti ambulatoriali con scompenso cronico.

La prevalenza dell'anemia in pazienti in classe NYHA IV arriva al 79%⁽⁷⁾.

Studi epidemiologici documentano che bassi livelli di Hb sono correlati a:

- sesso femminile;
- età avanzata;
- insufficienza renale;

- basso peso corporeo;
- segni di infiammazione;
- scompenso cardiaco avanzato.

Numerosi studi osservazionali hanno messo in evidenza che l'anemia è un fattore di rischio predittivo di mortalità, e che il rischio correlato all'anemia è indipendente rispetto agli altri fattori più noti come la frazione d'eiezione, la classe NYHA ecc.⁽⁶⁻¹¹⁾. In particolare i dati relativi ad un'ampia coorte di pazienti con scompenso in classe NYHA IV, riferiti ad un centro in vista di trapianto cardiaco, hanno dimostrato un significativo incremento del rischio anche nei casi di relativamente basso grado di anemia ($Hb < 12,6$ g/dl per gli uomini e $Hb < 11,6$ g/dl per le donne)⁽⁹⁾. Nel complesso i dati disponibili in letteratura, prevalentemente di tipo osservazionale, sembrano dimostrare una chiara associazione tra anemia e prognosi. Tali dati tuttavia debbono essere ancora valutati cautamente data la loro natura retrospettiva. Uno studio pubblicato recentemente ha dimostrato che, mentre i valori più bassi di ematocrito sono correlati a mortalità più elevata, tale associazione era dovuta ad una maggiore gravità dell'insufficienza cardiaca ed alla presenza di un maggior grado di comorbidità⁽¹²⁾.

L'associazione dell'anemia con prognosi sfavorevole ha fatto sì che l'anemia venga considerata come potenziale bersaglio terapeutico. Alcuni trial hanno dimostrato che la terapia con eritropoietina in pazienti con scompenso cardiaco è ben tollerata ed associata a benefici clinici (migliore tolleranza allo sforzo, aumento della frazione d'eiezione, diminuzione della dose di diuretico, riduzione delle ospedalizzazioni)^(7,13,14). Il valore ottimale dell'ematocrito da raggiungere, il dosaggio dell'eritropoietina e l'eventuale terapia supplementare con preparati di ferro sono ancora da definire. I risultati di questi trial vanno tuttavia considerati con doverosa cautela per vari aspetti tra cui l'esiguo numero dei pazienti, il carattere non randomizzato in uno di essi e per la mancanza del gruppo di controllo in un altro. É in corso

un trial in fase 2 con la darbopoietina, che avendo una più lunga emivita, consente somministrazioni meno frequenti. Nel complesso l'anemia viene riconosciuta attualmente come un'importante comorbidità nei pazienti con scompenso cardiaco, con una patogenesi non ancora ben definita, ma comunque risultato di numerosi fattori concomitanti. Numerosi studi sono in corso tra cui in particolare uno prospettico, che ha come obiettivo quello di definirne la prevalenza e l'incidenza, il meccanismo nonché gli effetti del trattamento sulla prognosi e sulla qualità della vita⁽¹⁵⁾.

Creatininemia

La coesistenza di insufficienza renale e scompenso cardiaco è comune, poiché queste due sindromi riconoscono condizioni predisponenti comuni come l'ipertensione arteriosa, la cardiopatia ischemica, la vasculopatia periferica ed il diabete mellito⁽¹⁶⁾. È utile l'esecuzione ed il monitoraggio della creatininemia (Liv III, Forza A).

Inoltre l'età avanzata di per se stessa può causare aumento della creatininemia.

Numerosi studi su pazienti con scompenso cardiaco hanno dimostrato peggioramento della prognosi in presenza di insufficienza renale, oltre a più lunga durata della ospedalizzazione e più elevato rischio di riospedalizzazione⁽¹⁷⁾.

Il peggioramento della funzione renale in corso di instabilizzazione di insufficienza cardiaca cronica viene definito frequentemente come sindrome cardiorenale e può essere spiegata con vari meccanismi: perdita della selettività nella redistribuzione della portata cardiaca, inibizione delle ciclo-ossigenasi, effetto della terapia con farmaci vasodilatatori, eccessivo uso di diuretici, anemia. L'inibizione del sistema renina-angiotensina-aldosterone ha dimostrato nella grande maggioranza dei pazienti, effetti favorevoli sia in termini di miglioramento dei sintomi, sia di riduzione della mortalità. Tuttavia in alcuni pazienti, nelle fasi avanzate e tardive dello scompenso cardiaco, si manifesta un'intolle-

ranza a tali farmaci proprio per un progressivo peggioramento della funzione renale. In questi pazienti la prognosi è molto sfavorevole con una mortalità, come dimostrato in un recente studio, del 57% a 8,5 mesi.

Elettroliti Plasmatici

L'iponatriemia rappresenta una delle più comuni alterazioni del quadro elettrolitico nei pazienti ricoverati per scompenso cardiaco. L'iponatriemia severa è associata a significativa morbidità e mortalità, per cui è considerata un fattore prognosticamente sfavorevole⁽¹⁸⁾. Si raccomanda il monitoraggio degli elettroliti plasmatici (Liv III, Forza A).

L'iponatriemia riflette l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, ma può essere anche dovuta ad eccessiva diuresi, circostanza in cui è generalmente associata ad ipotensione e disfunzione renale. Benché pazienti con insufficienza cardiaca non trattati con diuretici possano andare incontro ad iponatriemia dovuta a sovraccarico idrico (iponatriemia da diluzione), ovviamente i diuretici possono esacerbare l'iponatriemia. L'azione diretta sul rene conduce all'escrezione di sodio, che in presenza di elevate concentrazioni di vasopressina, determina iponatriemia. La maggior parte dei diuretici, fatta eccezione per quelli risparmiatori di potassio, determinano deplezione di potassio. Tuttavia l'ipokaliemia, frequentemente osservabile nei pazienti con scompenso cardiaco, non è imputabile esclusivamente alla terapia con diuretici; al suo sviluppo concorrono altri fattori tra cui l'alcalosi metabolica e l'attivazione neuro-ormonale. In particolare concorrono alla genesi dell'ipokaliemia l'attivazione del sistema adrenergico ed i livelli elevati di aldosteronemia. L'ipokaliemia può causare sintomi come debolezza e dolori muscolari ma le maggiori preoccupazioni riguardano il potenziale aritmogeno di tale condizione. Benché nella letteratura riguardante la terapia dell'ipertensione l'effetto

dell'ipokaliemia sulla mortalità sia controverso, al contrario il rischio aritmico nei pazienti con scompenso cardiaco è generalmente accettato⁽¹⁹⁾. Non va trascurato per converso il rischio dell'iperkaliemia, legato all'uso di supplemento di sali di potassio e/o di diuretici risparmiatori di potassio. La somministrazione di ACE-inibitori, eccessivo introito di potassio, diuretici risparmiatori di potassio, una condizione di disfunzione renale, possono determinare iperkaliemia che può essere responsabile di arresto cardiaco. Da ciò deriva la raccomandazione a tutti i pazienti che assumono diuretici, di un monitoraggio della concentrazione plasmatica del potassio, che andrebbe mantenuta al di sopra di 4 mmol/L, e comunque entro i normali limiti di riferimento.

Ormoni Tiroidei

Il dosaggio degli ormoni tiroidei andrebbe sempre eseguito in soggetti con scompenso cardiaco, in quanto sia l'ipertiroidismo che l'ipotiroidismo possono esacerbare la sintomatologia dello scompenso cardiaco (Liv IV, Forza A).

Nelle fasi avanzate dell'insufficienza cardiaca non è raro riscontrare ipotiroidismo che può essere legato alla riduzione del flusso ematico ghiandolare oppure, in pazienti in terapia infusioneale con dopamina, alla soppressione centrale di sintesi del TSH indotta dalla dopamina stessa. Infine è stata descritta in associazione con lo scompenso, una condizione di "malattia eutiroidica" caratterizzata da bassa concentrazione di T3, da un incremento della concentrazione della reverse T3 con valori di TSH normali o quasi, che non risponde alla terapia sostitutiva.

Albuminemia

L'ipoalbuminemia, la malnutrizione proteica ed in generale la cachessia sono riconosciuti come fattori prognostici sfavorevoli nei soggetti con scompenso cardiaco. È utile la valutazione dell'albumina (Liv IV, Forza A).

Recentemente alcuni Autori hanno posto l'attenzione sulla pressione oncotica plasmatica come fattore in grado di influenzare la comparsa ed il grado di congestione polmonare ad un dato livello di pressione polmonare. In particolare gli Autori hanno riscontrato ipoalbuminemia, con conseguente riduzione della pressione oncotica plasmatica in soggetti con edema polmonare acuto e frazione d'eiezione normale (scompenso a funzione sistolica conservata o cosiddetto scompenso diastolico). Tale dato al contrario, era assente in pazienti con scompenso cardiaco con ridotta frazione d'eiezione. L'ipoalbuminemia era per lo più correlata a malnutrizione o sepsi.

4.3.2 I BIOMARCATORI

Peptidi natriuretici

Negli ultimi dieci anni i peptidi natriuretici, in particolare il BNP e l'N-terminale proBNP (NT-proBNP), sono considerati il nuovo paradigma nella diagnosi, valutazione e management dell'insufficienza cardiaca; altri biomarcatori come il C-peptide natriuretico⁽²⁰⁾, l'endotelina I⁽²¹⁾, la tropoina⁽²²⁾, la proteina C reattiva^(23,24), l'apelina^(25,26), la miotropina⁽²⁷⁾, l'urotensina II⁽²⁸⁻³⁰⁾, l'adrenomedullina^(31,32), la cardiotropina 1^(33,34), l'urocortina⁽³⁵⁾, sono stati proposti come utili marcatori di patologia, ma ancora il loro ruolo nella pratica clinica non è definito.

La determinazione plasmatica del BNP e NT-proBNP è appropriata e consigliabile in pazienti con sospetta diagnosi di insufficienza cardiaca per la conferma della diagnosi stessa, quando la presentazione clinica sia ambigua e possa prestarsi ad altre diagnosi (come nel caso delle patologie respiratorie croniche) (Liv III, Forza A). BNP e NT-proBNP sono particolarmente utili per i non specialisti per confermare o per escludere la diagnosi di insufficienza cardiaca in pazienti con segni clinici evoca-

tivi di questa patologia, in particolare nell'ambito dell'emergenza/urgenza (Liv III, Forza A).

Nella prima diagnosi di insufficienza cardiaca il dosaggio del BNP o NT-proBNP non può essere utilizzato in alternativa o sostitutivo di altri accertamenti quali l'ecocardiografia e valutazioni emodinamiche che rimangono, allo stato attuale, il golden standard diagnostico (Liv III, Forza A).

ESAMI DI LABORATORIO NELLO SCOMPENSO CARDIACO ACUTO E CRONICO	
Esami tradizionali di cui è raccomandata l'esecuzione routinaria	
Forza della Raccomandazione A	
Esame emocromocitometrico	
Creatininemia	
Elettroliti plasmatici	
Ormoni tiroidei	
Albuminemia	

In pazienti con sintomatologia ovvia ed evocativa in modo chiaro di scompenso cardiaco non è necessario il dosaggio del BNP e NT-proBNP (Liv III, Forza A).

Il BNP e NT-proBNP hanno un alto valore predittivo negativo dimostrato e sono pertanto utili nell'escludere la presenza di insufficienza cardiaca ("rule out"). Possono essere utili come test iniziali prima dell'esecuzione di ulteriori procedure diagnostiche quali l'ecocardiografia anche in pazienti ambulatoriali non ospedalizzati (Liv III, Forza A).

Il BNP e NT-proBNP sono stati studiati inizialmente come indicatori di presenza di patologia e ne è stato valutato il ruolo diagnostico in pazienti con sintomi e segni clinici evocativi di insufficienza cardiaca. L'utilità del BNP e NT-proBNP nella fase di diagnosi iniziale è stata valutata in due studi clinici prospettici. Il Multicenter Breathing Not

Properly Study (BNP), utilizzando nella valutazione del BNP plasmatico un cut-off di 100 pg/mL ha dato risultati che hanno dimostrato una sensibilità del 90%, una specificità del 76% ed una accuratezza diagnostica del 81%, in una serie di 1586 pazienti con dispnea, dimostrandosi un test utile e predittivo di diagnosi⁽³⁶⁾ e di prognosi⁽³⁷⁾. In un ulteriore studio, sempre eseguito all'interno di strutture di medicina d'urgenza, il test si è dimostrato efficace nel porre diagnosi di insufficienza cardiaca, determinando oltre ad una maggiore accuratezza diagnostica anche una diminuzione dei tempi di ospedalizzazione e dei costi totali nel trattamento di questi pazienti⁽³⁸⁾. Analoghi risultati sono stati riportati in uno studio eseguito nell'ambito delle cure primarie ove il BNP si è dimostrato utile nel migliorare l'accuratezza diagnostica nei pazienti in carico ai medici di famiglia⁽³⁹⁾. Tuttavia vi sono studi che mettono in discussione l'uso estensivo di questo test in routine, quando si voglia valutare la presenza di insufficienza cardiaca, in particolare nella prima diagnosi, in ogni paziente sospettato di soffrirne⁽⁴⁰⁾. Tuttavia si segnalano i risultati di studi che mettono in rilievo come la misura del BNP e o NT-proBNP (come singola misura in acuzie), può presentare valori bassi di BNP rispetto a valori attesi per porre diagnosi di patologia (nel range di 80-300 pg/mL, utilizzando i reattivi Biosite), fallendo quindi nella capacità diagnostica, in particolare quando la patologia si caratterizzi con un edema polmonare "flush"⁽⁴¹⁾. È stato dimostrato come in ambito ambulatoriale pazienti con insufficienza cardiaca sintomatica possano avere livelli di BNP relativamente bassi rispetto a cut-off che sono normalmente considerati diagnostici (ad esempio BNP <100 pg/ml)⁽⁴²⁾.

In conclusione appare utile il dosaggio del BNP nei pazienti che presentino segni e sintomi sospetti per insufficienza cardiaca, al fine di differenziarla da altre patologie come quelle polmonari croniche, o quando la diagnosi di insufficienza cardiaca debba essere posta da non specialisti. È da

sottolinearsi come revisioni sistematiche abbiano sostanzialmente confermato la forza diagnostica del test^(43, 44).

BNP e NT-proBNP come screening di insufficienza cardiaca asintomatica

Il dosaggio plasmatico del BNP e/o NT-proBNP è appropriato per escludere in pazienti asintomatici, nell'ambito delle cure primarie, la presenza di LVD o di insufficienza cardiaca per il potere di "rule out" del test (Liv III, Forza A).

L'utilizzo estensivo del dosaggio del BNP o NT-proBNP come screening sulla popolazione asintomatica è oggetto di studio ed è, al momento, non consigliato (Liv V, Forza C).

L'ecocardiografia è indispensabile per confermare la diagnosi di insufficienza cardiaca e valutarne il grado (Liv V, Forza A).

Vi sono indicazioni che dimostrano come il BNP e NT-proBNP possano essere utili ad identificare i pazienti con LVSD nel post infarto e in pazienti ad alto rischio di sviluppare insufficienza cardiaca come nel caso dei diabetici. Il range diagnostico e il rapporto costo beneficio appare ancora controverso (Liv III, Forza B).

La valutazione del BNP e NT-proBNP in questo campo è sostanzialmente utile o nel caso di pazienti con infarto miocardico o nel caso di pazienti totalmente asintomatici. Nel primo caso la misura di BNP o NT-proBNP è stata valutata come utile indicatore di stato funzionale del ventricolo sinistro. Questo in quanto i valori ottenuti sono inversamente proporzionali alla frazione di eiezione ventricolare nel post infarto miocardico e nella valutazione di un quadro diagnosticabile come ALVD (asymptomatic left ventricular dysfunction). Poiché gli studi eseguiti appaiono

estremamente eterogenei, sia per la popolazione studiata, sia per le epoche in cui sono state eseguite le indagini e valutati i risultati, l'ecordiografia appare il metodo di riferimento per valutare anomalie organiche e/o funzionali conseguenti all'infarto miocardico⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾ e benchè sia possibile che in futuro si imponga il BNP o NT-proBNP in un uso estensivo con un ruolo estremamente importante, per ora esso deve essere integrato con le altre indagini cliniche e strumentali.

Attualmente, non appaiono conclusivi gli studi eseguiti per valutare, in fase di screening su popolazione, il ruolo del BNP e NT-proBNP nella diagnosi di ALVD, anche perché è difficile valutare i pazienti con un grado limitato di ALVD ed avere studi metodologicamente corretti⁽⁴⁷⁾. Questo poichè vi è un valore di cut off ancora non ben delineato fra i valori di BNP o NT-proBNP considerati patologici rispetto ai normali, in particolare ai livelli più bassi, e l'associazione con la diagnosi di ALVD è pertanto complessa. Si è cercato di migliorare l'efficacia del test utilizzandolo come indicatore diagnostico in popolazioni ad alto rischio⁽⁴⁸⁾. In particolare sono stati eseguiti studi in pazienti con elevato rischio di sviluppare insufficienza cardiaca quali i diabetici^(49,50) e gli anziani⁽⁵¹⁻⁵³⁾. Nonostante i dati non possano essere ritenuti conclusivi e permangano dubbi sul cut-off ottimale da impiegarsi, il test si conferma utile a questo compito, in particolare ad escludere la presenza della patologia (potere di rule out) anche se, in caso di positività al BNP e NT-proBNP, è comunque da eseguirsi l'accertamento ecocardiografico in particolare in caso di prima diagnosi.

Allo stato attuale è incerto l'uso del BNP e NT-proBNP per lo screening sulla popolazione per la diagnosi di LVSD. Importanti studi sono stati condotti per valutare, nell'ambito delle cure primarie, l'utilizzo di questo marker per escludere la diagnosi e per valutare anche la sua utilità per una

ottimale conduzione del processo diagnostico relativamente alla condizione patologica studiata, solo sospettata o di screening. Indubbiamente gli studi⁽⁵⁴⁻⁵⁶⁾ hanno dimostrato come il test sia in grado di fare uno screening efficace dei pazienti, individuando quelli che quasi sicuramente non hanno la patologia, evitando in tale modo l'uso di ulteriori indagini. Questa impostazione è stata confermata sia in termini di accuratezza diagnostica, sia in termini di costi-benefici dell'intervento^(57,58).

Biomarcatori cardiaci nella stratificazione del rischio e prognosi nei pazienti con insufficienza cardiaca

Il BNP e NT-proBNP plasmatici possono fornire utili indicazioni per la valutazione prognostica, in specifiche situazioni cliniche, ove sia richiesta una stratificazione del rischio (Liv III, Forza A).

Numerosi lavori scientifici supportano l'uso e l'utilità del BNP e NT-proBNP per la stratificazione del rischio e la prognosi in pazienti con insufficienza cardiaca⁽⁵⁹⁾. Questa considerazione sull'utilità del BNP e NT-proBNP nella stratificazione del rischio è stata valutata in diverse situazioni cliniche, quali la sindrome coronarica acuta⁽⁶⁰⁻⁶³⁾, l'insufficienza cardiaca scompensata⁽⁶⁴⁾, la stessa in fase di compenso⁽⁶⁵⁾ ed anche patologie non primariamente cardiache, come l'embolia polmonare^(66,67), e nella popolazione anche senza una pregressa storia di patologia cardiaca⁽⁶⁸⁾. Studi scientifici hanno dimostrato l'utilità del BNP e NT-proBNP nella selezione dei pazienti candidati al trapianto cardiaco^(69,70) ed anche come test utile nella valutazione del rischio di morte improvvisa^(71,72).

I biomarcatori cardiaci nella gestione del paziente con insufficienza cardiaca

Allo stato attuale il dosaggio routinario plasmatico del BNP e NT-proBNP non è indicato come strumento gui-

da per le decisioni terapeutiche da prendersi in pazienti sofferenti di insufficienza cardiaca (Liv III, Forza B).

Questo, nonostante vi siano evidenze in studi pilota e dati emergenti a supporto dell'utilità dell'esecuzione del dosaggio del BNP e NT-proBNP, per ottimizzare la terapia in pazienti con insufficienza cardiaca a miglioramento degli esiti di cura.

Inoltre rimane da chiarire la frequenza con cui il BNP e NT-proBNP dovrebbe essere dosato per essere di aiuto nella conduzione terapeutica.

È noto come il management del paziente con insufficienza cardiaca si basi su un giudizio clinico che si forma valutando nel loro complesso i risultati di diversi test di laboratorio relativi alla funzione di organi ed allo stato dei fluidi insieme alle informazioni fornite dalla diagnostica strumentale. Sotto questo aspetto è molto alto l'interesse per il BNP e NT-proBNP quale test diagnostico capace di guidare la terapia, indicando lo stato funzionale cardiaco del paziente in modo oggettivo.

È stato condotto uno studio per validare questa ipotesi in pazienti con uno stato di insufficienza cardiaca da lieve a moderata, dove la terapia con ACE inibitori e diuretici è stata finalizzata ad ottenere un valore inferiore alle 200 pmol/L di NT-ProBNP senza compromettere la funzione renale o determinare un grave stato ipotensivo⁽⁷³⁾. Questo studio ha dimostrato una diminuzione di eventi cardiovascolari gravi quali il decesso del paziente, ricoveri ospedalieri o episodi di scompenso nel gruppo randomizzato di pazienti ove la terapia era guidata dalla valutazione del NT-proBNP. Ancora si è utilizzato il BNP e NT-proBNP per la valutazione ed il monitoraggio della terapia negli episodi di scompenso cardiaco. In questo i valori di BNP e NT-proBNP si sono dimostrati un ottimo indicatore di risultato clinico^(64,74). Tuttavia rimane da valutare se l'uso del solo BNP e NT-proBNP associato ad una terapia aggressiva, sia effettivamente utile o

possa aumentare il rischio di insufficienza renale o di una maggiore permanenza ospedaliera dovuta ad effetti collaterali importanti della terapia senza ridurre la morbilità e mortalità.

Diversi studi hanno evidenziato importanti dati sia in favore che a sfavore dell'uso del BNP e NT-proBNP nella conduzione terapeutica. Infatti se da un lato è stata dimostrata una stretta correlazione fra miglioramenti emodinamici e livello di BNP e NT-proBNP, ovvero diminuzione dello stesso in conseguenza della terapia, questa relazione non è stata confermata nel caso di pazienti con uno stato avanzato di insufficienza cardiaca⁽⁷⁵⁾. Ancora le variazioni di BNP e NT-proBNP plasmatici correlate alla terapia con beta-bloccanti, terapia sicuramente efficace, non sono attualmente giudicate e misurate come significative⁽⁷⁶⁻⁷⁹⁾. Infine le ampie variazioni di BNP e NT-proBNP, misurati o come singolo punto o come indagini sequenziali nell'insufficienza cardiaca e nella conseguente terapia medica protratta, rendono ragione delle difficoltà a stabilire un livello di BNP e NT-proBNP sul quale orientare la terapia⁽⁸⁰⁻⁸³⁾. Due studi su un numero di casi particolarmente ampio sono ora in corso per stabilire e confermare l'utilità del dosaggio del BNP e NT-proBNP plasmatici nella conduzione terapeutica.

Considerazioni analitiche sui biomarcatori cardiaci BNP e NT-proBNP

Sia il BNP che il NT-proBNP sono test diagnostici ad ora accettati e consigliati per la diagnosi ed il monitoraggio dei pazienti sospettati di insufficienza cardiaca. Il monitoraggio simultaneo dei due biomarcatori non appare necessario (Liv III, Forza A).

La curva ROC dovrebbe stabilire e valutare l'efficacia clinica del test stabilendo i cutoff ottimali per l'uso diagnostico sia per il BNP che per il NT-proBNP. Tali indicazioni non sono ancora completamente definite (Liv III, Forza A).

La variabilità biologica, sia per il BNP che per il NT-proBNP, è dell'ordine approssimativo del 100%. Pertanto deve essere posta particolare cautela nell'interpretare variazioni della concentrazione inferiori al 100% in relazione alla terapia attuata con conseguenti decisioni sulla gestione del paziente (Liv III, Forza A).

Numerosi fattori quali la funzionalità renale, l'obesità e la funzione tiroidea, sono noti modificare le concentrazioni del BNP o NT-proBNP. Questa considerazione dovrebbe essere tenuta presente nell'interpretazione del dato. Intervalli appropriati di riferimento dovrebbero essere validati in queste popolazioni senza patologia cardiaca (Liv III, Forza A).

É opinione consolidata come la conoscenza dei fattori pre-analitici, analitici e post-analitici di un test di laboratorio sia importante per fornire informazioni diagnostiche utili per la pratica clinica. Questo è vero anche nel caso del BNP e NT-proBNP che possono essere determinati con diversi metodi con risultati che debbono essere valutati secondo le caratteristiche dei metodi stessi, sia nell'ambito del laboratorio tradizionale sia della esecuzione in POCT.

Ad oggi sono disponibili diversi test commerciali presenti sul mercato alcuni approvati dall'FDA, introdotti o in via di introduzione commercialmente anche in Italia. I kit commerciali disponibili sono per il BNP, Biosite Triage BNP, Bayer Cantaur BNP, Abbott AxSYM BNP e Shionogi IRMA BNP, e per il NT-proBNP, Roche Elecsys NT-proBNP. Inoltre Beckman Coulter ha avuto l'approvazione FDA per l'applicazione del BNP sulla piattaforma analitica Access, mentre il reattivo NT-proBNP della Roche è applicato sulla strumentazione Dade Behring Dimension.

In questo test, come in tutte le reazioni immunometriche, è necessario conoscere i possibili effetti interferenti di anticorpi eterofili, come le possibili alterazioni dovute alla degradazione che il BNP può subire. Importante è pure valu-

tare e verificare le interferenze dovute all'uso di anticoagulanti e le caratteristiche delle provette utilizzate, oltre alle caratteristiche relative alla degradazione dell'analita^(84,85).

Per il BNP il plasma o il sangue intero con EDTA sono il materiale biologico di scelta anche se, ad ora, solo il sistema Biosite Triage permette la misura diretta su sangue intero del BNP. Attualmente non vi è un sistema diagnostico commercialmente disponibile capace di utilizzare il sangue intero^(84,86), e il siero, il plasma eparinato ed il plasma EDTA, sono materiali accettabili per il dosaggio di NT-proBNP.

L'interpretazione del risultato offerto dal test e la valutazione della concentrazione del BNP e NT-proBNP deve tenere conto ed è influenzato da età, sesso, etnia, e da patologie non cardiache, come ad esempio l'insufficienza renale che può modificare le concentrazioni di BNP e NT-proBNP⁽⁸⁷⁻⁹⁰⁾. L'obesità altera i valori normali di BNP, infatti vi è una relazione inversa fra aumento del BMI e diminuzione del BNP⁽⁹¹⁾. Altri fattori sono particolarmente critici e da considerarsi nella valutazione dei livelli di BNP o NT-proBNP quando misurati, tra questi la funzionalità renale⁽⁹²⁻⁹⁶⁾, la funzionalità tiroidea^(97,98), le anomalie del ritmo cardiaco⁽⁹⁹⁻¹⁰¹⁾. La variabilità biologica del BNP o NT-proBNP non è ancora stata pienamente definita; la variabilità biologica intraindividuale del BNP o NT-proBNP va dal 35 al 45%, che può raggiungere il 100%⁽¹⁰²⁾ nel monitoraggio fra serie differenti. È altresì noto che il monitoraggio del BNP, per due settimane in due periodi diversi, in pazienti con patologia miocardica dimostra che la concentrazione misurata sia nel 50% circa dei casi fuori dai valori attesi per la variabilità biologica⁽¹⁰³⁾.

La possibilità dell'utilizzo terapeutico di BNP (neseritide) umano ricombinante è un possibile fattore di alterazione non diagnostica del valore di BNP stesso; infatti il farmaco non presenta differenze nella struttura molecolare tali da

renderlo distinguibile dal BNP. È da notarsi come la somministrazione di BNP non modifichi i valori ed il significato del NT-proBNP.

Per questi motivi, allo stato attuale, il monitoraggio del BNP e/o NT-proBNP non può essere utilizzato come unico indicatore nel corretto management del paziente con insufficienza miocardica, ma deve essere valutato nell'insieme complessivo dei segni clinici e delle indagini strumentali complessivamente disponibili per l'ottimale management del paziente⁽¹⁰⁴⁾. Al momento non è possibile stabilire una correlazione fra le concentrazioni misurate di BNP e NT-proBNP dei diversi reagenti, metodiche e strumenti commerciali presenti sul mercato. Non vi sono due test commerciali equivalenti e le evidenze cliniche presentate dagli studi non sono trasferibili con semplicità dall'una all'altra metodica. - pertanto utile, per asserzioni conclusive, aspettare la disponibilità di studi condotti su grandi numeri.

Esecuzione di BNP e NT-proBNP in POCT

Il laboratorio dovrebbe eseguire il BNP o NT-proBNP durante le 24 ore con un TAT raccomandabile inferiore ai 60 minuti. Il TAT è definito come l'intervallo che intercorre fra esecuzione del prelievo e risultato pervenuto al clinico che opera sul paziente. È accettabile sia l'esecuzione del test nel laboratorio convenzionale che con strumentazione POCT^(36,64,105-107) (Liv III, Forza B).

Raccomandazioni pre-analitica, di raccolta e conservazione del campione

Il BNP deve essere determinato entro 4 ore dalla raccolta se il campione è mantenuto a temperatura ambiente; in caso contrario il campione deve essere centrifugato e separato. L'aggiunta di un inibitore delle proteasi al plasma permette una conservazione idonea a 4°C per 72 ore o, se congelato idealmente a -70°C, per periodi molto più lunghi^(85,86,108-110) (Liv III, Forza A).

Unità di misura

L'unità di misura per il BNP o NT-proBNP deve essere espressa in ng/L piuttosto che in pmol/L, almeno fino a quando non vi sarà un materiale di riferimento primario utilizzabile per la calibrazione del test e di tracciabilità riferibili al SI⁽¹¹⁰⁾ (Liv III, Forza A).

Le specifiche di qualità per la determinazione del BNP o NT-proBNP sono illustrate in⁽¹¹⁰⁾, documento di riferimento per la parte analitica di laboratorio.

I TEST PER LA VALUTAZIONE DELL'INSUFFICIENZA CARDIACA	
Esami tradizionali	Esame emocromocitometrico; Creatinina; Ormoni tiroidei; Elettroliti ed indicatori del metabolismo; Sodio; Albumina; Bilirubina totale; Emoglobina; Acido urico.
Neurormoni	Catecolamine; Renina, angiotensina II, aldosterone; Peptidi natriuretici: ANP, BNP, N-proANP, N-proBNP; Endotelina.
Biomarcatori	Troponina; Proteina C ad alta sensibilità (hsCRP); Apelina; Cardiotropina 1; Urotensina II; Adrenomedullina; Leptina; Grelina; Miotropina; Insulin like growth factor-1 (IGFH-1).

ESAMI DI LABORATORIO NELLO SCOMPENSO CARDIACO ACUTO E CRONICO
Peptidi natriuretici (BNP, NT-pro-BNP): condizioni in cui è raccomandata l'esecuzione routinaria
Forza della Raccomandazione A
Conferma diagnosi di insufficienza cardiaca in pazienti sintomatici (diagnosi differenziale con altre patologie ad es: respiratorie)
Valutazione prognostica quando sia richiesta una stratificazione del rischio (es: candidati al trapianto)

BIBLIOGRAFIA

1. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, et al. ACC/AHA. *Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America*. Circulation 2001; 104:2996-3007.
2. Poole-Wilson PA. *History, definition, and classification of heart failure*. In: Poole-Wilson PA, Colucci WS, Massie BM, Chatterjee K, Coats AJS, eds Heart failure. Scientific principles and clinical practice. London: Churchill Livingstone 1997; 269-277.
3. Working Group Report. *How to diagnose diastolic heart failure: European Study Group on Diastolic Heart Failure*. Eur Heart J 1998; 19:990-1003.
4. Clerico A, Emdin M. *Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: a review*. Clin Chem 2004; 50(1):33-50.
5. Maisel AS. *The diagnosis of acute congestive heart failure: role of BNP measurements*. Heart Fail Rev 2003; 8:327-34.
6. Silverberg DS, Wexler D, Blum M, et al. *The use of subcutaneous erythropoietin and intravenous iron for the treatment of the anemia of severe, resistant congestive heart failure improves cardiac and renal function and functional cardiac class, and markedly reduces hospitalizations*. J Am Coll Cardiol 2000; 35:1737-44.
7. Ezekowitz JA, McAlister FA, Armstrong PW. *Anemia is common in heart failure and is associated with poor outcomes: insights from a cohort of 12,065 patients with new-onset heart failure*. Circulation 2003; 107:223-5.
8. Horwich TB, Fonarow GC, Hamilton MA, et al. *Anemia is associated with worse symptoms, greater impairment in*

- functional capacity and a significant increase in mortality in patients with advanced heart failure. J Am Coll Cardiol* 2002; 39:1780-6.
9. Kosborod M, Smith GL, Radford MJ, et al. *The prognostic importance of anemia in patients with heart failure. Am J Med* 2003; 114:112-9.
 10. Mozaffarian D, Nye R, Levy WC. *Anemia predicts mortality in severe heart failure: the Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation (PRAISE). J Am Coll Cardiol* 2003; 41:1933-9.
 11. Felker GM, Gattis WA, Leimberger JD, et al. *Usefulness of anemia as a predictor of death and rehospitalization in patients with decompensated heart failure. Am J Cardiol* 2003; 92:625-8.
 12. Kosiborod M, Curtis JP, Smith GL, et al. *Anemia is not and independent predictor of mortality in patients with heart failure-results from the National Heart Failure Project. Circulation* 2003; 108:IV665-IV666.
 13. Silverberg DS, Wexler D, Sheps D, et al. *The effect of correction of mild anemia in severe, resistant congestive heart failure using subcutaneous erythropoietin and intravenous iron: a randomized controlled study. J Am Coll Cardiol* 2001; 37:1775-80.
 14. Mancini DM, Katz SD, Lamanca J, et al. *Effect of erythropoietin on exercise capacity in patients with moderate to severe chronic heart failure. Circulation* 2003; 107:294-9.
 15. Adams KF, Patterson JH, Pina I, et al. *STAMINA-HFP (Study of Anemia in a Heart Failure Population) registry: rationale, design, and patient characteristics. J Card Failure* 2003; 9:73.
 16. Lapman PG, Golduber GN, Le Jemtel TH. *Heart failure treatment and renal function. Am Heart J* 2004; 147:193.
 17. Kittleson M, Hurwitz S, Shah MR, et al. *Development of circulatory renal limitations to angiotensin-converting enzyme inhibitors identifies patients with severe heart failure and early mortality. J Am Coll Cardiol* 2003; 41:2029-35.

18. Lee WH, Packer M. *Prognostic importance of serum sodium concentration and its modification by converting enzyme inhibition in patients with severe chronic heart failure.* Circulation 1986; 73:257.
19. Packer M, Lee WH. *Provocation of hyper- and hypokalemic sudden death during treatment with and withdrawal of converting enzyme inhibition in severe chronic congestive heart failure.* Am J Cardiol 1986; 57:347.
20. Kalra PR, Clague JR, Bolger AP, et al. *Myocardial production of C-type natriuretic peptide in chronic heart failure.* Circulation 2003; 107:571-3.
21. Kinugawa T, Kato M, Ogino K, et al. *Plasma endothelin-1 levels and clinical correlates in patients with chronic heart failure.* J Card Fail 2003; 9:318-24.
22. Horwich TB, Patel J, MacLellan WR, Fonarow GC. *Cardiac troponin I is associated with impaired hemodynamics, progressive left ventricular dysfunction, and increased mortality rates in advanced heart failure.* Circulation 2003; 108:833-8.
23. Berton G, Cordiano R, Palmieri R, et al. *C-reactive protein in acute myocardial infarction: association with heart failure.* Am Heart J 2003; 145:1094-101.
24. Alonso-Martinez JL, Llorente-Diez B, Echegaray-Agara M, et al. *C-reactive protein as a predictor of improvement and readmission in heart failure.* Eur J Heart Fail 2002; 4:331-6.
25. Chen MM, Ashley EA, Deng DX, et al. *Novel role for the potent endogenous inotrope apelin in human cardiac dysfunction.* Circulation 2003; 108:1432-9.
26. Foldes G, Horkay F, Szokodi I, et al. *Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure.* Biochem Biophys Res Commun 2003; 308:480-5.
27. O'Brien RJ, Loke I, Davies JE, et al. *Myotrophin in human heart failure.* J Am Coll Cardiol 2003; 42:719-25.
28. Ng LL, Loke I, O'Brien RJ, et al. *Plasma urotensin in human systolic heart failure.* Circulation 2002; 106:2877-80.

29. Richards AM, Nicholls MG, Lainchbury JG, et al. *Plasma urotensin II in heart failure*. Lancet 2002; 360:545-6.
30. Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, et al. *Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II*. Lancet 2002; 359:1990-7.
31. Richards AM, Doughty R, Nicholls MG, et al. *Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: prognostic utility and prediction of benefit from carvedilol in chronic ischemic left ventricular dysfunction*. Australia-New Zealand Heart Failure Group. J Am Coll Cardiol 2001; 37:1781-7.
32. Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, et al. *Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: new neurohormonal predictors of left ventricular function and prognosis after myocardial infarction*. Circulation 1998; 97:1921-9.
33. Talwar S, Squire IB, Downie PF, et al. *Elevated circulating cardiotrophin-1 in heart failure: relationship with parameters of left ventricular systolic dysfunction*. Clin Sci (Lond) 2000; 99:83-8.
34. Ng LL, O'Brien RJ, Demme B, Jennings S. *Non-competitive immunochemiluminometric assay for cardiotrophin-1 detects elevated plasma levels in human heart failure*. Clin Sci (Lond) 2002; 102:411-6.
35. Ng LL, Loke IW, O'Brien RJ, et al. *Plasma urocortin in human systolic heart failure*. Clin Sci (Lond) 2003.
36. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al. *Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure*. N Engl J Med 2002; 347:161-7.
37. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. *Plasma natriuretic peptides levels and risk of cardiovascular events and death*. N Engl J Med 2004; 350:655-63.
38. Mueller C, Scholer A, Laule-Kilian K, et al. *Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea*. N Engl J Med 2004; 350:647-54.
39. Wright SP, Doughty RN, Pearl A, et al. *Plasma amino-terminal pro-brain natriuretic peptide and accuracy of heart-*

- failure diagnosis in primary care: a randomized, controlled trial.* J Am Coll Cardiol 2003; 42:1793-800.
40. Packer M. *Should B-type natriuretic peptide be measured routinely to guide the diagnosis and management of chronic heart failure?* Circulation 2003; 108:2950-3.
 41. Logeart D, Saudubray C, Beyne P, et al. *Comparative value of Doppler echocardiography and B-type natriuretic peptide assay in the etiologic diagnosis of acute dyspnea.* J Am Coll Cardiol 2002; 40:1794-800.
 42. Tang WH, Girod JP, Lee MJ, et al. *Plasma B-type natriuretic peptide levels in ambulatory patients with established chronic symptomatic systolic heart failure.* Circulation 2003; 108:2964-6.
 43. Doust JA, Glatziou PP, Pietrzak E, Dobson AJ. *A systematic review of the diagnostic accuracy of natriuretic peptides for heart Failure.* Arch Intern Med 2004; 164: 1978-2004.
 44. Clerico A. *The increasing impact of laboratory medicine on clinical cardiology.* Clin Chem Lab Med 2003 Jul; 41(7):871-83.
 45. Vasan RS, Benjamin EJ, Larson MG, et al. *Plasma natriuretic peptides for community screening for left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction: the Framingham heart study.* JAMA 2002; 288:1252-9.
 46. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. *Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death.* N Engl J Med 2004; 350:655-63.
 47. Luchner A, Burnett JC Jr, Jougasaki M, et al. *Evaluation of brain natriuretic peptide as marker of left ventricular dysfunction and hypertrophy in the population.* J Hypertens 2000; 18:1121-8.
 48. Nielsen OW, McDonagh TA, Robb SD, Dargie HJ. *Retrospective analysis of the cost-effectiveness of using plasma brain natriuretic peptide in screening for left ventricular systolic dysfunction in the general population.* J Am Coll Cardiol 2003; 41:113-20.
 49. Epshteyn V, Morrison K, Krishnaswamy P, et al. *Utility of B-type natriuretic peptide (BNP) as a screen for left ventri-*

- cular dysfunction in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26:2081-7.
50. Silver MA, Pisano C. *High incidence of elevated B-type natriuretic peptide levels and risk factors for heart failure in an unselected at-risk population (stage A): implications for heart failure screening programs.* *Congest Heart Fail* 2003; 9:127-32.
 51. Groenning BA, Raymond I, Hildebrandt PR, et al. *Diagnostic and prognostic evaluation of left ventricular systolic heart failure by plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations in a large sample of the general population.* *Heart* 2004; 90:297-303.
 52. Alehagen U, Lindstedt G, Eriksson H, Dahlstrom U. *Utility of the amino-terminal fragment of pro-brain natriuretic peptide in plasma for the evaluation of cardiac dysfunction in elderly patients in primary health care.* *Clin Chem* 2003; 49:1337-46.
 53. Hutcheon SD, Gillespie ND, Struthers AD, McMurdo ME. *B-type natriuretic peptide in the diagnosis of cardiac disease in elderly day hospital patients.* *Age Ageing* 2002; 31:295-301.
 54. Lerman A, Gibbon RJ, Rodeheffer RJ. *Circulating N-terminal atrial natriuretic peptide as a marker for symptomless left ventricular dysfunction.* *Lancet* 1993; 341:1105-9.
 55. McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR. *Biochemical detection of left ventricular systolic dysfunction.* *Lancet* 1998; 351:9-13.
 56. Cowie MR, Struthers AD, Wood DA. *Value of natriuretic peptides in assesement of patients with possible new heart failure in primary care.* *Lancet* 1997; 350:1349-53.
 57. Senior R, Galsko G, McMurray JV, Mayet J. *Screening for left ventricular dysfunction in the community: role of hand held echocardiography and brain natriuretic peptides.* *Heart* 2003; 89: suppl 3:24-8.
 58. Wright SP, Doughty RN, Pearl A, et al *Plasma amino terminal pro brain amino terminal natriuretic peptide and accuracy of heart failure diagnosis in primary care: a randomi-*

- zed controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42:1793-800.
59. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. *Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death.* *N Engl J Med* 2004; 350:655-63.
 60. James SK, Lindahl B, Siegbahn A, et al. *N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: a Global Utilization of Strategies To Open occluded arteries (GUSTO)-IV substudy.* *Circulation* 2003; 108:275-81.
 61. Richards AM, Nicholls MG, Espiner EA, et al. *B-type natriuretic peptides and ejection fraction for prognosis after myocardial infarction.* *Circulation* 2003; 107:2786-92.
 62. Omland T, Persson A, Ng L, et al. *N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in acute coronary syndromes.* *Circulation* 2002; 106:2913-8.
 63. De Lemos JA, Morrow DA. *Combining natriuretic peptides and necrosis markers in the assessment of acute coronary syndromes.* *Rev Cardiovasc Med* 2003; 4 Suppl 4:S37-46.
 64. Cheng V, Kazanagra R, Garcia A, et al. *A rapid bedside test for B-type peptide predicts treatment outcomes in patients admitted for decompensated heart failure: a pilot study.* *J Am Coll Cardiol* 2001; 37:386-91.
 65. Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, et al. *Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT).* *Circulation* 2003; 107:1278-83.
 66. Pruszczyk P, Kostrubiec M, Bochowicz A, et al *N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with acute pulmonary embolism.* *Eur Respir J* 2003; 22:649-53.
 67. Kruger S, Graf J, Merx MW, et al *Brain natriuretic peptide predicts right heart failure in patients with acute pulmonary embolism.* *Am Heart J* 2004; 147:60-5.
 68. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. *Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death.* *N Engl J Med* 2004; 350:655-63.

69. Gardner RS, Ozalp F, Murday AJ, et al. *N-terminal pro-brain natriuretic peptide. A new gold standard in predicting mortality in patients with advanced heart failure.* Eur Heart J 2003; 24:1735-43.
70. Koglin J, Pehlivanli S, Schwaiblmair M, et al. *Clinical value of brain natriuretic peptide for candidate selection before cardiac transplantation.* J Heart Lung Transplant 2001; 20:164.
71. Berger R, Huelsman M, Strecker K, et al. *B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure.* Circulation 2002; 105:2392-7.
72. Koglin J, Pehlivanli S, Schwaiblmair M, et al. *Role of brain natriuretic peptide in risk stratification of patients with congestive heart failure.* J Am Coll Cardiol 2001; 38:1934-41.
73. Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, et al. *Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations.* Lancet 2000; 355:1126-30.
74. O'Brien RJ, Squire IB, Demme B, et al. *Pre-discharge, but not admission, levels of NT-proBNP predict adverse prognosis following acute LVF.* Eur J Heart Fail 2003; 5:499-506.
75. O'Neill JO, Bott-Silverman C, McRae AT, et al. *B-type natriuretic peptide levels are not a surrogate marker for invasive hemodynamics during management of patients with severe heart failure.* Am Heart J 2004; in press.
76. Hara Y, Hamada M, Shigematsu Y, et al. *Effect of beta-blocker on left ventricular function and natriuretic peptides in patients with chronic heart failure treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor.* Jpn Circ J 2000; 64:365-9.
77. van den Meiracker AH, Lameris TW, van de Ven LL, Boomsma F. *Increased plasma concentration of natriuretic peptides by selective beta1-blocker bisoprolol.* J Cardiovasc Pharmacol 2003; 42:462-8.
78. Zugck C, Haunstetter A, Kruger C, et al. *Impact of beta-blocker treatment on the prognostic value of currently used risk predictors in congestive heart failure.* J Am Coll Cardiol 2002; 39:1615-22.

79. Stanek B, Frey B, Hulsmann M, et al. *Prognostic evaluation of neurohumoral plasma levels before and during beta-blocker therapy in advanced left ventricular dysfunction.* J Am Coll Cardiol 2001; 38:436-42.
80. Tang WH, Girod JP, Lee MJ, et al. *Plasma B-type natriuretic peptide levels in ambulatory patients with established chronic symptomatic systolic heart failure.* Circulation 2003; 108:2964-6.
81. Troughton RW, Prior DL, Pereira JJ, et al. *Plasma B-type natriuretic peptide levels in systolic heart failure: importance of left ventricular diastolic function and right ventricular systolic function.* J Am Coll Cardiol 2004; 43:416-422.
82. Melzi d'Eril G, Tagnochetti T, Nauti A, et al. *Biological variation of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in healthy individuals.* Clin Chem 2003; 49:1554-5.
83. McGeoch G, Lainchbury J, Town GI, et al. *Plasma brain natriuretic peptide after long-term treatment for heart failure in general practice.* Eur J Heart Fail 2002; 4:479-83.
84. Shimizu H, Aono K, Masuta K et al. *Degradation of human brain natriuretic peptide (BNP) by contact activation of blood coagulation system.* Clin Chim Acta 2001; 305:181-6.
85. Shimizu H, Masuta K, Asada H et al. *Characterization of molecular forms of probrain natriuretic peptide in human plasma.* Clin Chim Acta 2003; 334:233-9.
86. Belenky A, Smith A, Zhang B, et al. *The effect of class-specific protease inhibitors on the stabilization of B-type natriuretic peptide in human plasma.* Clin Chim Acta 2004; 340: 163-72.
87. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ et al. *Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender.* J Am Coll Cardiol 2002; 40:976-82.
88. Emdin M, Passino C, Del Ry S, et al. *Influence of gender on circulating cardiac natriuretic hormones in patients with heart failure.* Clin Chem Lab Med 2003; 41:686-92.
89. Loke I, Squire IB, Davies JE, Ng LL. *Reference ranges for natriuretic peptides for diagnostic use are dependent on age, gender and heart rate.* Eur J Heart Fail 2003; 5:599-606.

90. McLean AS, Huang SJ, Nalos M, et al. *The confounding effects of age, gender, serum creatinine, and electrolyte concentrations on plasma B-type natriuretic peptide concentrations in critically ill patients.* Crit Care Med 2003; 31:2611-8.
91. Wang TJ, Larson MG, Levy D, et al. *Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels.* Circulation 2004; 109:594-600.
92. McLean AS, Huang SJ, Nalos M, et al. *The confounding effects of age, gender, serum creatinine, and electrolyte concentrations on plasma B-type natriuretic peptide concentrations in critically ill patients.* Crit Care Med 2003; 31:2611-8.
93. McCullough PA, Duc P, Omland T, et al. *B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis from the Breathing Not Properly Multinational Study.* Am J Kidney Dis 2003; 41:571-9.
94. Vesely DL. *Natriuretic peptides and acute renal failure.* Am J Physiol Renal Physiol 2003; 285:F167-77.
95. McCollough PA, Kuncheria J, Mathur VS. *Diagnostic and therapeutic utility of B-type natriuretic peptide in patients with renal insufficiency and decompensated heart failure.* Rev Cardiovasc Med 2003; 4 Suppl 7:S3-S12.
95. Herrmann Z, Uhl W, Steinberg HW, Dworschack R. *The influence of renal function on NT-proBNP levels in various disease groups.* Clin Lab 2003; 49:649-656.
97. Schultz M, Faber J, Kistorp C, et al. *N-terminal-pro-B-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) in different thyroid function states.* Clin Endocrinol (Oxf) 2004; 60:54-9.
98. Missouris CG, Grouzmann E, Buckley MG, et al. *How does treatment influence endocrine mechanisms in acute severe heart failure? Effects on cardiac natriuretic peptides, the renin system, neuropeptide Y and catecholamines.* Clin Sci (Lond) 1998; 94:591-9.
99. Albage A, Kenneback G, van der Linden J, Berglund H. *Improved neurohormonal markers of ventricular function after restoring sinus rhythm by the Maze procedure.* Ann Thorac Surg 2003; 75:790-5.

100. Inoue S, Murakami Y, Sano K, et al. *Atrium as a source of brain natriuretic polypeptide in patients with atrial fibrillation*. J Card Fail 2000; 6:92-6.
101. Rossi A, Enriquez-Sarano M, Burnett JC Jr, et al. *Natriuretic peptide levels in atrial fibrillation: a prospective hormonal and Doppler-echocardiographic study*. J Am Coll Cardiol 2000; 35:1256-62.
102. Wu AHB, Smith A, Wiecezorek S et al. *Biologic variation for N-terminal pro and B-type natriuretic peptides and implications for therapeutic monitoring of patients with congestive heart failure*. Am J Cardiol 2003; 92:628-31.
103. Wu AHB, Smith A, Apple FS. *Optimum blood collection intervals for B-type natriuretic peptide testing in heart failure patients*. Am J Cardiol 2004; in press.
104. Panteghini M, Clerico A. *Understanding the clinical biochemistry of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: the prerequisite for its optimal clinical use*. Clin Lab 2004; 50(5-6):325-31.
105. Tjeerdsma G, de Boer RA, Boomsma F, et al. *Rapid bedside measurement of brain natriuretic peptide in patients with chronic heart failure*. Int J Cardiol 2002; 86(2-3):143-9; discussion 149-52.
106. Cowie MR, Jourdain P, Maisel A, et al. *Clinical applications of B-type natriuretic peptide (BNP) testing*. Eur Heart J 2003; 24(19):1710-8.
107. McCullough PA, Hollander JE, Nowak RM, et al. *Uncovering heart failure in patients with a history of pulmonary disease: rationale for the early use of B-type natriuretic peptide in the emergency department*. Acad Emerg Med 2003; 10(3):275-7.
108. Yeo KTJ, Wu AHB, Apple FS, et al. *Multicenter evaluation of the Roche NT-proBNP assay and comparison to the Biosite triage BNP assay*. Clin Chim Acta 2003; 338:107-15.
109. van der Merwe D, Henley R, Lane G, et al. *Effect of different sample types and stability after blood collection of N-terminal pro-B type BNP natriuretic peptides as measured with Roche Elecsys system*. Clin Chem 2004; 50:779-80.

110. Apple FS, Panteghini M, Ravkilde J, et al. *Quality specifications for B-Type Natriuretic peptide assays*. Clin Chem 2005; 51:486-493.

5. Appendice

Appendice

5.1 LA VARIABILITÀ PREANALITICA

Questo tipo di variabilità è la somma di diverse componenti: la variabilità biologica intra e interindividuale, correlata agli stili di vita del soggetto e alla sua preparazione al prelievo (dieta, fumo, assunzione di alcol, esercizio fisico), alle condizioni cliniche (patologie preesistenti, assunzione di farmaci) ed infine la variabilità legata al prelievo e al trattamento del campione.

Variabilità biologica

La variabilità intraindividuale è definita come fluttuazione della concentrazione di un costituente plasmatico attorno al punto omeostatico individuale ed è espressa come CV% (CVb)⁽¹⁾; è una fonte ineliminabile di variabilità ed il suo peso può essere diminuito solo effettuando più di una determinazione a distanza di tempo, durante il quale il soggetto abbia mantenuto il più possibile inalterato il suo stile di vita. La variabilità interindividuale è legata alle caratteristiche demografiche dei soggetti: età, sesso, razza.

I dati relativi alla variabilità biologica intra e interindividuale presentano una sostanziale concordanza di valori nei diversi studi. Nella tabella che segue sono elencate le medie dei dati disponibili⁽²⁻⁷⁾. L'indice di individualità, in essa riportato, è ottenuto dividendo il coefficiente di varia-

zione intraindividuale per il coefficiente di variazione interindividuale; quando la variabilità fra individui è molto alta rispetto alla variabilità intraindividuale (indice <0.6), l'utilizzo degli intervalli di riferimento per la valutazione del dato analitico è di scarsa utilità e rischia di essere addirittura fuorviante, perché i singoli soggetti possono avere valori inusuali per loro, ma ancora all'interno degli intervalli di riferimento⁽⁸⁾. In questi casi è consigliabile valutare i diversi parametri utilizzando valori soglia derivati dagli studi di popolazione⁽⁹⁾; molti dei parametri considerati presentano un indice di individualità <0.6 ; la proteina C reattiva ha un indice di individualità molto vicino al limite ed il fibrinogeno lievemente superiore.

Tabella - Variabilità biologica (intraindividuale e interindividuale) espressa come CV% e Indice di individualità secondo i riferimenti da 2 a 7

	Variabilità intraindividuale CV%	Variabilità interindividuale CV%	Indice di individualità
Colesterolo	5.6	15.2	0.37
Colesterolo LDL	8.5	22.7	0.37
Colesterolo HDL	7.3	21.7	0.34
Trigliceridi	22	42	0.52
Lp(a)	9.6	85.8	0.11
Proteina C reattiva	54.6	92.5	0.59
Omocisteina	7.7	29.9	0.26
Fibrinogeno	10.7	15.8	0.68
Glucosio	6.5	7.7	0.84

Preparazione al prelievo

Sono diverse le variabili che è necessario tenere sotto controllo per una corretta standardizzazione di questa fase preanalitica:

- effettuare la misura in laboratorio solo quando il soggetto è in uno stato metabolico stabile;
- la dieta ed il peso devono essere stabili da almeno due settimane;
- l'intenso esercizio fisico deve essere evitato da almeno 24 ore;
- l'assunzione di caffeina o alcol deve essere evitata nelle ore immediatamente precedenti il prelievo;
- non eseguire la misura in gravidanza o durante l'allattamento;
- non eseguire prima di tre mesi da un infarto miocardico o in corso di patologie infiammatorie.

Prelievo

L'ortostatismo induce, rispetto alla posizione supina, un aumento della concentrazione plasmatica di molti metaboliti a causa del passaggio di fluidi nel compartimento extra-vascolare. L'incremento è stimato essere di circa il 10% per le lipoproteine e per le altre sostanze ad alto peso molecolare e per le sostanze che circolano legate alle proteine (omocisteina). La standardizzazione della procedura richiede che il prelievo venga effettuato in posizione seduta, mantenuta da almeno 5 minuti⁽¹⁰⁾. La stasi venosa prodotta dall'applicazione del laccio comporta un'emoconcentrazione che è proporzionale al tempo di occlusione; si valuta che sia del 10% per 5 minuti di occlusione⁽¹⁰⁾. Il laccio andrebbe mantenuto solo per il tempo strettamente necessario e tolto prima che il sangue cominci a defluire. Il prelievo capillare (proposto più volte per gli screening sul territorio), risente senz'altro più del prelievo venoso delle modalità con le quali viene effettuato (ad esempio schiacciamento del polpastrello con fuoriuscita di liquido interstiziale); la sua equivalenza con il prelievo venoso non è sta-

ta dimostrata con sicurezza⁽¹⁰⁾. Particolare cautela deve essere quindi applicata nella valutazione di valori ottenuti su campioni di questo tipo e utilizzati per la classificazione dei soggetti⁽¹¹⁾.

Campione

Per lipidi, lipoproteine e proteina C reattiva il campione può essere siero o plasma. A causa dell'effetto osmotico dovuto alla presenza dell'anticoagulante, è stato stimato che i campioni raccolti in EDTA presentino una diminuzione della concentrazione di lipidi e lipoproteine del 3-5%. L'eparina non presenta effetto osmotico e dovrebbe quindi essere l'anticoagulante di elezione; l'attivazione della lipoproteinlipasi e il suo effetto sui trigliceridi sembrano minimi se si utilizza litio-eparina^(10,12). Le provette contenenti questo anticoagulante sono diventate di uso comune per le misure di chimica clinica in quanto consentono di ridurre sensibilmente il tempo dedicato alla fase preanalitica. I valori presentati nelle Linee guida attuali⁽¹³⁾ sono riferiti a campioni di siero. L'effetto della conservazione del campione sui diversi metodi analitici è oltremodo variabile e metodo dipendente^(10,12).

5.2 LA VARIABILITÀ ANALITICA

La definizione a livello internazionale di livelli decisionali da utilizzare come riferimenti nella definizione dei livelli di rischio, induce a porre la massima attenzione sugli aspetti analitici relativi alla misura di tutti i parametri laboratoristici che contribuiscono alla definizione del rischio stesso. Infatti la presenza di scostamenti sistematici o di imprecisione condiziona la corretta definizione del rischio e comporta errori nella classificazione dei pazienti che possono avere conseguenze anche significative sul numero dei pazienti da sottoporre ad un trattamento dietetico o farmacologico.

Il livello delle caratteristiche analitiche dei test da utilizzare deve quindi essere adeguato allo scopo.

Colesterolo totale

Aspetti preanalitici⁽¹⁰⁾

Dieta. Gli effetti delle abitudini alimentari sui lipidi e le lipoproteine sono ben conosciuti anche se molto variabili da individuo a individuo. In generale l'assunzione di grassi di origine animale causa un aumento del colesterolo totale e LDL, mentre una dieta di tipo vegetariano ha l'effetto contrario. La variazione delle abitudini alimentari modifica la concentrazione plasmatica di lipidi e lipoproteine in un tempo relativamente breve, per cui, se la misura è intesa alla classificazione del soggetto rispetto al rischio, questo dovrebbe mantenere inalterato il proprio stile di vita e la propria dieta nei giorni che precedono il prelievo. Le Linee guida suggeriscono di verificare l'effetto del cambiamento di dieta sulle concentrazioni plasmatiche dei fattori di rischio almeno dopo 3 mesi di regime alimentare corretto⁽¹³⁾. Il prelievo a digiuno non è indispensabile.

Obesità. Negli individui obesi, i bruschi cambiamenti di peso inducono modificazioni importanti del profilo lipidico; di conseguenza i soggetti devono evitare cambiamenti dello stile di vita in grado di causare sensibili aumenti o perdite di peso nel periodo immediatamente precedente al prelievo.

Fumo e Alcol. Queste due abitudini influenzano significativamente sia nel breve che nel lungo periodo e devono essere evitate nelle ore che precedono il prelievo⁽¹⁰⁾.

Condizioni cliniche. Tra le patologie in grado di influenzare sensibilmente il metabolismo lipidico vanno ricordate l'ipotiroidismo e l'insufficienza renale cronica. La flogosi comporta una diminuzione sensibile del colesterolo totale. Se la misura serve a classificare il paziente in rapporto al suo rischio di sviluppare malattia cardiovascolare, il suo stato deve essere quello basale; in particolare le misure non devono essere effettuate con patologie infiammatorie in atto o non completamente superate e devono essere trascorsi almeno 3-

4 mesi da un infarto miocardico^(14,15). Le interleukine responsabili di questo effetto sulla sintesi del colesterolo, necessitano di almeno 24 ore per agire; la misura dei parametri lipidici nel paziente infartuato, è dunque consentita entro questo periodo di tempo.

Farmaci. Per le interferenze analitiche risulta impossibile produrre un elenco esaustivo; esistono peraltro test estremamente informativi⁽¹⁶⁾. I farmaci possono tuttavia agire sul metabolismo delle sostanze da misurare; tra le azioni più note ricordiamo l'effetto dei diuretici e del trattamento ormonale sul metabolismo lipidico⁽¹²⁾.

Conservazione del campione. L'effetto della conservazione del campione sui diversi metodi analitici è oltremodo variabile e metodo dipendente^(10,12). In generale lipidi, lipoproteine e proteina C reattiva si conservano bene a +4°C per 5-7 giorni; periodi più lunghi di conservazione richiedono lo stoccaggio in congelatore a temperature di -20°C o più basse⁽¹⁰⁾.

Caratteristiche analitiche

Nel 1988⁽¹⁷⁾ il Laboratory Standardization Panel del National Cholesterol Education Program (NCEP) ha indicato, come traguardo da raggiungere per tutti i laboratori, il contenimento dell'errore casuale entro il 3% o meno e la riduzione del bias (errore sistematico) al di sotto del $\pm 3\%$.

Livello di standardizzazione. Per il colesterolo totale esiste un metodo di riferimento primario^(18,19) esiste un metodo di riferimento secondario⁽²⁰⁾, un materiale di riferimento primario (NIST SRM 911b) e vari materiali di riferimento secondari (ad es. NIST 909b), esiste inoltre una rete di laboratori di riferimento, coordinata dal Center for Disease Control di Atlanta (USA), che ha anche un suo centro in Italia. Dal punto di vista teorico quindi la situazione si può considerare ottimale. Non esistono dati recenti relativi alla qualità anali-

tica della misura del colesterolo in Italia, quelli relativi al 1996⁽²¹⁾ indicavano un livello di precisione adeguato (oltre il 90% dei laboratori aveva un $CV < 3\%$), ma la presenza di uno scostamento sistematico positivo pari a circa il 2% rispetto al metodo di riferimento, tale per cui solo il 50% dei partecipanti all'esperimento si era dimostrato in grado di raggiungere i criteri del NCEP. Dati più recenti a livello internazionale sono parzialmente contraddittori: mentre a livello giapponese⁽²²⁾ la situazione appare ottimale, con scostamenti $< 1\%$ rispetto al metodo di riferimento secondario, a livello europeo i dati sono molto meno confortanti, con presenza di un bias positivo medio superiore al 4%⁽²³⁾.

Specificità analitica (interferenze)

I metodi adottati nella pratica sono esclusivamente metodi enzimatici; il metodo impiegato nella quasi totalità dei laboratori prevede una idrolisi degli esteri del colesterolo con colesterolo-esterasi, una successiva ossidazione del colesterolo libero con colesterolo-ossidasi ed infine una reazione di Trinder. I problemi che più frequentemente si presentano riguardano la completezza dell'idrolisi degli esteri del colesterolo, la specificità della fase di ossidazione del colesterolo libero e le possibili interferenze nella fase di colorazione. L'inclusione nei reattivi commerciali di esterasi microbiche (particolarmente efficace sembra quella estratta da *Pseudomonas fluorescens*) sembra aver superato in gran parte il problema di una completa idrolisi. Per quanto riguarda la specificità dell'ossidazione, anche in questo caso le ossidasi batteriche hanno raggiunto buoni risultati, ma la loro specificità è limitata⁽²⁴⁾; c'è da osservare tuttavia che gli altri steroli presenti in circolo hanno una concentrazione di parecchi ordini di grandezza inferiore a quella del colesterolo e che quindi anche la cross reattività riscontrata assume scarso significato.

Le interferenze nella reazione di colorazione sono dovute principalmente a bilirubina, emoglobina e a trigliceridi. Non

è possibile fornire una stima generica per questo tipo di interferenze perché esse sono strettamente sistema-analitico dipendenti.

Colesterolo HDL

Aspetti preanalitici

Il prelievo a digiuno è raccomandato per la misura di colesterolo HDL⁽¹⁰⁾. Per gli altri aspetti vedi la parte generale e quella relativa al colesterolo.

Caratteristiche analitiche

Nel 1995⁽²⁵⁾ sono stati indicati dal NCEP come traguardi analitici da raggiungere per il colesterolo HDL una imprecisione $\leq 4\%$ per concentrazioni ≥ 42 mg/dL (1.09 mmol/L) e una deviazione standard ≤ 1.7 mg/dL (0.044 mmol/L) a concentrazioni < 42 mg/dL ed un bias $\leq \pm 5\%$ che portano ad un massimo errore totale accettabile $\leq 13\%$.

Livello di standardizzazione. I problemi legati alla misura del colesterolo veicolato dalle lipoproteine ad elevata densità (HDL), risiedono principalmente nella difficoltà di definire l'analita in modo preciso. Le HDL sono lipoproteine che si separano ad una densità > 1.063 g/mL e si assume che le lipoproteine separate, utilizzando metodi basati su caratteristiche diverse dalla densità idrata (elettroforesi, precipitazione polianionica), corrispondano alla classe lipoproteica centrifugale. In realtà, le classi centrifugali includono famiglie lipoproteiche che differiscono per dimensione e contenuto lipidico e proteico. Questo è particolarmente vero per le HDL, che esistono fisiologicamente in un equilibrio metabolico dinamico in quanto interagiscono continuamente con le altre lipoproteine (LDL, VLDL), scambiando con esse componenti proteici e/o lipidici. Le HDL (così come le altre lipoproteine) sono così definite dalla caratteristica utilizzata per separarle (la densità idrata), ma questa caratteristica ha, per certi versi, poco a che fare con la loro funzione metabolica.

Per il colesterolo HDL non esiste dunque un metodo "definitivo", che richiederebbe una preliminare esatta definizione dell'analita. L'attuale riferimento per l'accuratezza è la procedura standardizzata presso il CDC⁽²⁶⁾, in quanto i più importanti studi epidemiologici tesi a stabilire la correlazione tra colesterolo HDL e rischio sono stati eseguiti con tale metodo. La procedura prevede l'allontanamento delle VLDL mediante ultracentrifugazione, la precipitazione con eparina-manganese delle LDL dalla frazione isolata di > 1.006 g/mL e la misura del colesterolo nel sovranatante con il metodo di riferimento in uso sia per la determinazione del colesterolo totale ottimizzato che per la misura in un ambito di valori a bassa concentrazione. La complessità di tale metodo che si traduce in una scarsa trasferibilità, ha indotto il Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) alla validazione di un metodo alternativo che non prevede l'allontanamento preventivo delle VLDL. Il metodo utilizza Dextran solfato 50000 come reagente precipitante delle lipoproteine contenenti apo B, ed è attualmente in uso presso i Laboratori della rete⁽²⁷⁾. I centri della rete sono autorizzati a mantenere il metodo di riferimento designato per la verifica della accuratezza e ad essi si possono rivolgere sia i singoli laboratori che le organizzazioni commerciali.

I metodi impiegati nella pratica di laboratorio si suddividono in tre categorie: elettroforetici, di precipitazione, diretti o omogenei. I metodi elettroforetici o con precipitazione non sono praticamente più utilizzati.

Metodi omogenei (o diretti): consentono la misura del colesterolo HDL appunto in fase omogenea, senza che sia necessario allontanare preventivamente le lipoproteine contenenti apo B. Il principio sul quale queste tecniche si basano è la formazione di complessi solubili tra un primo reagente e le lipoproteine contenenti apo B, consentendo così agli enzimi aggiunti successivamente di reagire solo con il colesterolo veicolato dalle HDL⁽²⁸⁾.

Questo approccio consente la misura del colesterolo HDL sugli analizzatori automatici analogamente a quanto avviene per la misura del colesterolo totale, garantendo una maggiore precisione e riducendo il lavoro manuale nel laboratorio. Questi reattivi sono stati sottoposti a molteplici valutazioni anche internazionali in questi ultimi anni⁽²⁹⁻³¹⁾ e sono risultati precisi ed in buon accordo con i metodi di classe riferimento.

Colesterolo LDL

Aspetti preanalitici

Il prelievo a digiuno è raccomandato per la misura di colesterolo LDL^(10,32). Per gli altri aspetti vedi la parte generale e quella relativa al colesterolo.

Caratteristiche analitiche

Nel 1995⁽³³⁾ sono stati indicati dal NCEP come traguardi analitici da raggiungere per il colesterolo LDL un'imprecisione $\leq 4\%$ ed un bias $\leq \pm 4\%$ che portano ad un massimo errore totale accettabile $\leq 12\%$.

Livello di standardizzazione. Le considerazioni esposte a proposito del colesterolo HDL, relativamente alla mancanza di una definizione accurata dell'analita, valgono anche per il colesterolo LDL. Le lipoproteine a bassa densità sono definite come la classe lipoproteica centrifugale con densità compresa tra 1.019 e 1.063 g/mL; tuttavia la frazione LDL include anche le IDL, le VLDL remnants che sono i precursori metabolici delle LDL e che si trovano nel range di densità 1.006-1.019 g/mL, e la lipoproteina(a). Poiché la determinazione attraverso il calcolo, è stato il metodo impiegato nei trials clinici che hanno dimostrato l'importanza del colesterolo LDL nella valutazione del rischio vascolare, la definizione "allargata" di colesterolo LDL, comprendente cioè anche il colesterolo legato ad altre classi lipoproteiche aterogeniche [IDL, remnants delle VLDL, Lp(a)], è quella cui normalmente ci si riferisce.

L'attuale riferimento per l'accuratezza è la procedura sviluppata presso il CDC, definita come β -quantification. La concentrazione del colesterolo LDL viene ricavata sottraendo il valore del colesterolo HDL dal valore di colesterolo determinato nell'infranatante dopo ultracentrifugazione ($> 1.006\text{g/mL}$)⁽³⁴⁾.

Metodi di routine. Sono ormai solo di interesse storico i metodi elettroforetici e quelli basati su precipitazione con polianioni (eparina, polivinile solfato, destrano solfato, polimeri anfipatici). I sistemi in uso sono: calcolo mediante la formula di Friedewald e metodi "omogenei".

a) *Formula di Friedewald*⁽³⁵⁾: permette di stimare il colesterolo LDL sottraendo dal colesterolo totale il colesterolo legato alle classi lipoproteiche non-LDL.

$$\text{colesterolo LDL} = \text{colesterolo totale} - (\text{colesterolo HDL} + \text{trigliceridi} \times a)$$

dove $a = 0.46$ se i valori sono espressi in mmol/L oppure $a = 0.20$ se i valori sono espressi in mg/dL. Il colesterolo totale e quello legato alle HDL vengono misurati, mentre il colesterolo legato alle VLDL viene stimato dalla concentrazione dei trigliceridi, considerando uguale a 5 il rapporto tra trigliceridi e colesterolo nelle VLDL.

L'attendibilità della formula è stata molto discussa. L'accuratezza di una tale misura del colesterolo LDL dipende infatti da non pochi fattori quali ad esempio la precisione con la quale si misurano le tre variabili (colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi), da un rapporto costante colesterolo/trigliceridi nelle VLDL e dall'assenza di chilomicroni e remnants delle VLDL. Infatti quando la trigliceridemia totale non è dovuta alle sole VLDL, il suo valore non può essere usato per derivare il colesterolo LDL. Il rapporto tra colesterolo e trigliceridi nelle VLDL poi non è costante, ma cambia in rapporto alla trigliceridemia totale e nelle diverse situazioni fisiopatologiche.

Queste considerazioni tuttavia non limitano l'uso della formula nella pratica di laboratorio, purché la trigliceridemia sia inferiore a 4.66 mmol/L (400 mg/dL), il campione non contenga chilomicroni e non sia presente dislipidemia di tipo III^(36,37). Mentre le ultime due condizioni sono rare, l'ipertrigliceridemia è relativamente frequente (quantomeno in alcuni gruppi di popolazione, ad esempio in pazienti diabetici).

L'utilizzo della formula di Friedewald è stato anche validato in numerosi studi clinici nei quali si è evidenziato il ruolo del colesterolo LDL quale fattore di rischio nella malattia cardiovascolare^(38,39) ed è divenuto negli anni la modalità più frequente per la misura di questo analita. Sono state proposte molte modificazioni di questa formula, ma nessuna si è dimostrata superiore come accordo rispetto al metodo di riferimento⁽³²⁾.

Specificità analitica

L'attendibilità dei risultati forniti dalla formula si riduce quando il livello dei trigliceridi supera i 200 mg/dL e, dato che questo avviene con elevata frequenza nel caso dei pazienti diabetici, l'uso della formula è meno indicato in questa popolazione⁽⁴⁰⁾. In altre condizioni come l'insufficienza renale o epatica l'uso della formula appare accettabile⁽³²⁾. Dato che l'accresciuto livello di trigliceridi è spesso associato alla presenza di LDL piccole e dense, in queste condizioni la formula è considerata poco attendibile⁽⁴¹⁾. Sembra inoltre che, a bassi livelli di LDL, abbia un rilevante bias negativo (fino a -18,5% per livelli di LDL di 60 mg/dL)⁽⁴²⁾.

- b) *Metodi omogenei (o diretti)*: sulla base della tecnologia disponibile per la misura del colesterolo HDL sono stati sviluppati metodi che permettono la misura in fase omogenea anche del colesterolo LDL. Ci sono almeno cinque diverse formulazioni commerciali di questo tipo

di reattivi che, attraverso vari metodi, consentono la reazione solo sul colesterolo veicolato dalle LDL⁽³²⁾.

Specificità analitica

Le prestazioni di questi metodi in termini di precisione sono superiori a quelle della formula di Friedewald⁽³²⁾. I dati di letteratura che valutano le prestazioni di questi metodi sono numerosi e contrastanti. Ad esclusione di uno, subiscono tutti un'interferenza positiva da trigliceridi (contrariamente al calcolo in cui i trigliceridi comportano un'interferenza negativa)⁽⁴³⁾; come il calcolo, la maggior parte dei test omogenei non fornisce risultati confrontabili con il metodo di riferimento in pazienti con dislipidemia di tipo III⁽⁴³⁾. La diversa capacità dei vari metodi di misurare anche il colesterolo delle IDL e della Lp(a) condiziona il livello di correlazione con il metodo di riferimento. Per campioni con concentrazioni di trigliceridi < 400 mg/dL non vi è un chiaro vantaggio dell'uso di questi metodi rispetto alla formula di Friedewald⁽⁴³⁾.

Trigliceridi

Aspetti preanalitici

Il prelievo a digiuno è necessario.

Caratteristiche analitiche

Nel 1995⁽⁴⁴⁾ sono stati indicati dal NCEP, come traguardi analitici da raggiungere per la misura dei trigliceridi, un'imprecisione $\leq 5\%$ ed un bias $\leq \pm 5\%$ che portano ad un massimo errore totale accettabile $\leq 15\%$.

Livello di standardizzazione.

Il National Institute of Standards and Technology (NIST) ha pubblicato due metodi definitivi candidati⁽⁴⁵⁾, entrambi basati su diluizione isotopica-spettrometria di massa; uno di questi misura i soli tri-gliceridi, il secondo misura i gliceridi totali (tri-, di-, mono-gliceridi e glicerolo libero).

Come metodo di riferimento ad interim, il CDC utilizza il metodo chimico basato sulla procedura di Carlson e sulle successive applicazioni di Zilversmith e Lofland⁽⁴⁶⁻⁴⁹⁾. Tale metodo prevede una fase di estrazione con acido salicilico e cloruro di metilene (che estrae i trigliceridi e parte dei di-gliceridi), una fase di idrolisi dei trigliceridi estratti con idrossido di potassio e la determinazione colorimetrica del glicerolo con acido cromotropico. Il metodo, pur presentando una solida base per l'accuratezza, trova una notevole difficoltà ad essere accettato perché la sua complessità analitica lo rende difficilmente trasferibile. Nei laboratori della rete del CDC è stata messa a punto una metodica alternativa che accoppia la fase di estrazione con la determinazione enzimatica del glicerolo per ottenere un "metodo di confronto designato" di più semplice esecuzione che possa servire per la valutazione dell'accuratezza dei metodi di routine⁽⁵⁰⁾. Il livello di standardizzazione potrebbe quindi essere considerato adeguato, in realtà non è così per i seguenti motivi:

- I trigliceridi sono una miscela complessa ed i due metodi definitivi hanno un livello di specificità differente sia tra di loro, sia rispetto al metodo di riferimento del CDC che rispetto ai metodi di routine.
- La misura dei soli trigliceridi si ottiene infatti con metodo ID-MS dopo separazione in fase solida; il metodo CDC invece misura anche parte dei di-gliceridi e forse alcuni mono-gliceridi, ma non il glicerolo libero; i metodi di routine comunemente usati misurano tri-, di-, mono-gliceridi e glicerolo libero.
- Dato che il livello di glicerolo libero può essere differente nei vari pazienti, metodi che non impiegano la correzione del glicerolo libero non possono essere riconducibili (tracciabili) al metodo di riferimento e quest'ultimo a sua volta può avere bias variabili dal metodo definitivo.

Metodi di routine. Il problema del glicerolo libero. Il glicerolo libero rappresenta la maggiore fonte di inaccuratezza in quanto tutti i metodi disponibili si basano sulla misura del glicerolo che si libera per idrolisi enzimatica dei trigliceridi⁽⁵⁾. Se nel campione preesiste glicerolo, esso viene misurato come trigliceridi; questa interferenza può essere eliminata con due diverse modalità. Fisiologicamente il glicerolo libero proviene dall'idrolisi dei trigliceridi catalizzata da diverse lipasi la cui attività è regolata da alcuni ormoni (adrenalina, noradrenalina, glucagone, tiroxina) come pure dall'eparina. La sua concentrazione ematica è di solito molto bassa, ma può aumentare in seguito ad alterazioni degli ormoni sopra ricordati o a trattamento con eparina. Anche alcune variabili preanalitiche sono in grado di elevare notevolmente la concentrazione di glicerolo nel campione, come ad esempio l'utilizzo di provette con tappi lubrificati con glicerolo o il trattamento con glicerolo dell'edema cerebrale.

In una elevata percentuale di pazienti la concentrazione di glicerolo libero non è tale da apportare variazioni significative al valore della trigliceridemia, tuttavia in alcuni pazienti la glicerolemia può essere particolarmente elevata (fino a 2 mmol/L). Questi sono pazienti ospedalizzati con patologie gravi e multiorgano, spesso sottoposti a nutrizione parenterale totale. In tali condizioni mancano ovviamente i presupposti per una valutazione del rischio cardiovascolare del soggetto; tuttavia il valore della trigliceridemia in questi pazienti può essere importante. Il problema di se e quando eseguire il bianco nella misura dei trigliceridi è stato ampiamente discusso e non ancora del tutto risolto^(52,53). Idealmente, ogni determinazione di trigliceridi dovrebbe essere eseguita come trigliceridi "veri"; in pratica dato che non sono attualmente facilmente accessibili sul mercato metodi che lo consentano in modo economico e conveniente, questo non avviene. Come è stato accennato, una glicerolemia elevata si osserva solo in una piccola

parte di pazienti; tuttavia in questi, una misura di trigliceridi senza bianco può portare a decisioni cliniche inappropriate. Allo stato attuale delle cose, la misura dei trigliceridi senza sottrazione del glicerolo sembra accettabile per la definizione del livello di rischio.

Apolipoproteina A-I e Apolipoproteina B

Aspetti preanalitici

Il digiuno non è indispensabile, anche se la presenza di campioni torbidi può avere effetti interferenti sui metodi immunonefelometrici ed immunoturbidimetrici.

Caratteristiche analitiche

Livello di standardizzazione. La International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) ha costituito un Expert Panel che ha prodotto un calibratore comune⁽⁵⁴⁻⁵⁷⁾. Lo standard primario per apo B, è costituito da una frazione ultracentrifugale di LDL (1.030-1.050 kg/L); quello per apo A-I è invece costituito dalla proteina isolata e purificata⁽⁵⁸⁾. Quindi, anche se mancano metodi di riferimento primari, sono disponibili materiali di riferimento (WHO SP1-01 per apo A-I, valore assegnato di 1.50 g/L e WHO SP3-07 per apo B, valore assegnato di 1.22 g/L) utilizzati dall'industria come base per la standardizzazione dei metodi commerciali.

Metodi di routine. I metodi disponibili sono metodi radioimmunologici, immunenzimatici, di immunoprecipitazione in mezzo solido (immunodiffusione radiale, elettroimmunodiffusione), di immunoprecipitazione in mezzo liquido (nefelometria, turbidimetria). Le tecniche di nefelometria e turbidimetria sono le più diffuse perché automatizzabili su strumenti dedicati ed anche sulla comune strumentazione di chimica clinica⁽⁵⁹⁾.

Le fonti di variabilità principali sono dovute al tipo di antisiero e al tipo di calibratore utilizzato. La particolare

conformazione delle lipoproteine, nelle quali i determinanti antigenici della apoproteina sono mascherati o modificati dalla presenza dei lipidi, rendono problematica la preparazione degli antisieri specifici e di un calibratore adeguato.

Lipoproteina(a)

Aspetti preanalitici

I livelli non risentono della dieta.

Caratteristiche analitiche

La lipoproteina(a) è una molecola altamente eterogenea. L'apolipoproteina(a) presenta infatti 34 isoforme a causa di un numero variabile di replicati di una sequenza molto simile al kringle 4 del plasminogeno⁽⁶⁰⁾. Per questo motivo i metodi analitici basati su anticorpi che riconoscono questa porzione della molecola, a parità di concentrazione di Lp(a) forniscono risultati differenti a seconda delle sue dimensioni⁽⁶¹⁾. Le dimensioni medie della molecola sono poi diverse nei vari gruppi razziali^(60,62), inoltre le forme a piccole dimensioni sembrano essere più aterogeniche⁽⁶³⁾, da qui deriva la raccomandazione di utilizzare metodi in grado di fornire misure accurate indipendentemente dalle dimensioni delle molecole di Lp(a) nel campione⁽⁶⁴⁾.

Livello di standardizzazione. Il processo di standardizzazione è portato avanti dal Working Group dell'IFCC^(65,66) con lo scopo di selezionare un materiale di riferimento secondario che possa servire da base comune per l'assegnazione del valore ai calibratori commerciali. Il materiale da solo non è però in grado di arrivare ad un livello di standardizzazione sufficiente, dati i problemi legati all'eterogeneità della molecola ed alla conseguente differente risposta fornita da anticorpi diversi.

Metodi di routine. I metodi disponibili sono metodi immunologici: radioimmunologici, immunoenzimatici o immunone-

felometrici. Ai due problemi indicati in precedenza (materiale di calibrazione ed eterogeneità degli anticorpi), se ne aggiunge un terzo legato alle modalità di espressione dei risultati. Dato che la lipoproteina(a) è formata da due diverse proteine in rapporto non costante tra di loro a causa della eterogeneità di dimensione di apo(a), fornire i risultati in mg/L può costituire una fonte importante di inaccuratezza. È consigliabile dunque che il valore al calibratore sia attribuito in nmol/L di apo(a) ed i risultati siano espressi di conseguenza⁽⁶⁴⁾. Al fine di superare i molteplici problemi legati ai metodi immunologici sono stati proposti metodi basati sulla misura del colesterolo contenuto nella lipoproteina(a). Due metodi utilizzano la misura enzimatica del colesterolo contenuto nella lipoproteina separata mediante ultracentrifugazione⁽⁶⁷⁾, o mediante affinità per la lectina⁽⁶⁸⁾. Un terzo metodo prevede l'utilizzo della separazione elettroforetica e la colorazione o la reazione enzimatica per il colesterolo sulla lipoproteina così separata e la successiva valutazione densitometrica della frazione⁽⁶⁹⁾.

Fibrinogeno

Aspetti preanalitici

Il fibrinogeno risente in maniera importante del tipo di dieta⁽⁷⁰⁾; in particolare le diete ricche in acidi saturi portano ad un suo aumento. Il prelievo a digiuno è raccomandato. Va prelevato in plasma citratato come tutti gli altri parametri di coagulazione: in questo caso la variabile più importante riguarda l'osservanza del corretto rapporto tra campione e anticoagulante⁽⁷¹⁾.

Livello di standardizzazione. Non esistono metodi di riferimento né materiali di riferimento ufficialmente riconosciuti anche se il metodo gravimetrico⁽⁷²⁾ basato sul peso del coagulo viene utilizzato come tale.

Metodi di routine. Esistono varie categorie di metodi: metodi basati sul tempo richiesto per la formazione del coagu-

lo (Von Clauss); metodi basati sull'intensità della torbidità dovuta alla formazione della fibrina, o del light scatter, correlato alla quantità di fibrina formatasi durante l'esecuzione del tempo di protrombina (PT derivati); metodi che misurano il fibrinogeno come proteina (immunodiffusione radiale). L'eterogeneità dei risultati ottenuti con i diversi metodi è notevole, con differenze medie comprese tra $\pm 10-20\%$; anche nell'ambito di una specifica metodica la varietà dei risultati ottenuti può essere grande in funzione del materiale utilizzato per la calibrazione⁽⁷³⁾.

Proteina C reattiva

Aspetti preanalitici

I soggetti devono evitare cambiamenti dello stile di vita in grado di causare sensibili aumenti o perdite di peso nel periodo immediatamente precedente al prelievo. La perdita di peso è anche associata alla diminuzione della concentrazione di proteina C reattiva^(12,74).

Livello di standardizzazione. Esiste un materiale di riferimento (BCR CRM 470) ed un metodo che può essere considerato di riferimento⁽⁷⁵⁾. L'utilizzo del CRM 470 è stato validato anche per la calibrazione dei metodi ad elevata sensibilità (Kimberly)⁽⁷⁶⁾.

Metodi di routine. Possono essere basati su tecniche nefelometriche, turbidimetriche o ELISA. Essenziale la sensibilità che deve raggiungere gli 0.15 mg/L ⁽⁷⁷⁾ (< 2.5 percentile della popolazione generale).

Omocisteina

Aspetti preanalitici

L'omocisteina risente in maniera importante del tipo di dieta^(78,79); in particolare le diete ricche in proteine animali e povere di vegetali portano ad un aumento dei livelli di omocisteina. Un pasto ricco in proteine animali comporta un aumento consistente ($\sim 15\%$) delle concentrazioni di omoci-

steina anche nell'immediato (6 h circa)⁽⁷⁹⁾. Il campione consigliato per la misura dell'omocisteina è un campione di plasma K3EDTA (o litio-eparina) raccolto in ghiaccio, avendo cura di separare il plasma dagli eritrociti il più rapidamente possibile. Questa procedura impedisce il rilascio di omocisteina dai globuli rossi e garantisce una adeguata stabilità del campione^(79,80). L'omocisteina è stabile per anni in campioni congelati^(79,80).

Livello di standardizzazione. Esistono due metodi che possono essere considerati di riferimento^(81,82). Non sono disponibili però materiali di riferimento certificati e questo rende ancora non risolto il problema della standardizzazione del metodo⁽⁷⁹⁾.

Metodi di routine. Sono stati proposti i seguenti requisiti di qualità analitica⁽⁷⁹⁾: bias < 10% e CV < 5%. Nel siero sono presenti forme multiple (legate all'albumina, come omocisteina), che sono convertite tutte a omocisteina mediante l'impiego di un agente riducente. I metodi impiegati poi per la misura possono essere suddivisi in due classi: HPLC e immunochimici.

BIBLIOGRAFIA

1. Fraser CG, Harris EK. *Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry*. Crit Rev Lab Sci 1989; 27:409-37.
2. Fraser CG. *Biological variation in clinical chemistry. An update: collated data*. Arch Pathol Lab Med 1992; 116:16-23.
3. Sebastian-Gambaro MA, Liron-Hernandez FJ, Fuentes-Arderiu X. *Intra- and Inter-individual biological variability data bank*. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35:845-52.
4. Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. *Current database on biological variation: pros, cons and progress*. Scand J lab Invest 1999; 59:491-500.
5. Rossi E, Beilby JP, McQuillan BM, Hung J. *Biological variability and reference intervals for total plasma homocysteine*. Ann Clin Biochem 1999; 36:56-61.
6. Maes M, Scharpe S, Cooreman W, et al. *Components of biological, including seasonal, variation in haematological measurements and plasma fibrinogen concentrations in normal humans*. Experientia 1995; 15:141-9.
7. Chenillot O, Henny J, Steinmetz J, et al. *High sensitivity C-reactive protein: biological variation and reference limits*. Clin Chem Lab Med 2002; 38:1003-11.
8. Harris EK. *Effects of intra- and interindividual variation on appropriate use of normal ranges*. Clin Chem 1974; 20:1535:42.
9. Petersen PH, Sandberg S, Fraser CG, et al. *Influence of index of individuality on false positives in repeat sampling from healthy individuals*. Clin Chem Lab Med 2001; 39:160-5.
10. Rifai N, Dufour R, Cooper G. *Preamalytical variation in lipid, lipoprotein and apolipoprotein testing*. In Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH eds: Handbook of lipoprotein testing. Washington DC:AACC Press 2000; 161-187.
11. Greenland P, Bowley NL, Meiklejohn B, et al. *Blood cholesterol concentration: fingerstick plasma vs venous serum sampling*. Clin Chem 1990; 36:628-30.

- 12.Ledue TB, Rifai N. *Preamalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment*. Clin Chem 2003; 49:1258-71.
- 13.*Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III): Final Report*. Circulation 2002; 106:3143-421.
- 14.Rosenson RS. *Myocardial injury: the acute phase response and lipoprotein metabolism*. J Am Coll Cardiol 1993; 22:933-40.
- 15.Henkin Y, Crystal E, Goldeberg Y, et al. *Usefulness of lipoprotein changes during acute coronary syndromes for predicting postdischarge lipoprotein levels*. Am J Cardiol 2002; 89:7-11.
- 16.Young DS. *Effects of drugs on Clinical Laboratory tests*. 5th ed. Washington DC: AACC Press 2000; 2200pp.
- 17.*Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States: a report from the laboratory standardization panel of the National Cholesterol Education Program*. Clin Chem 1988; 34:193-201.
- 18.Cohen A, Hertz HS, Mandel J et al. *Total serum cholesterol by isotope dilution/mass spectrometry: a candidate definitive method*. Clin Chem 1980; 26:854-60.
- 19.Ellerbe P, Meiselmann S, Sniegowski LT, et al. *Determination of serum cholesterol by a modification of the isotope dilution mass spectrometric definitive method*. Anal Chem 1989; 61:1718-23.
- 20.Abell LL, Levy BB, Brodie BB, Kendall FE. *Simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity*. J Biol Chem 1951; 195:357-66.
- 21.Graziani MS, Ceriotti F, Carobene A, et al and SIBioC GISSI Prevenzione Group. *Accuracy of cholesterol measurement in Italian clinical laboratories. Joint project GISSI Prevention - Italian Society of Clinical Biochemistry*. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35:311-5.

22. Nakamura M, Sato S, Shimamoto T. *Improvement in Japanese clinical laboratory measurement of total cholesterol and HDL-cholesterol by the US Cholesterol Reference Method Laboratory Network*. J Atheroscler Thromb 2003; 10:143-53.
23. Thienpont LM, Stöckl D, Friedecky B, et al. *Trueness verification in European Quality assessment schemes: time to care about the quality of the samples*. Scans J Clin Lab Invest 2003; 63:195-202.
24. Modenese A, Carobene A, Ferrero C, et al. *Reference method for serum total cholesterol measurement: does substituting enzymatic step for Liebermann - Burchard reaction improve specificity*. Clin Chem 1996; 42:475-7.
25. The National Cholesterol Education Program Working Group on lipoprotein measurement. *The National Cholesterol Education Program Recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: Executive Summary*. Clin Chem 1995; 41:1427-33.
26. Wiebe DA, Warnick GR. *Measurement of high-density lipoprotein cholesterol*. In Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH eds: Handbook of lipoprotein testing. Washington, AACC Press 1997; 127-44.
27. Kimberly MM, Leary ET, Cole TG, et al. *Selection, validation standardisation and performance of a designated comparison method for HDL cholesterol for use in the Cholesterol Reference method laboratory network*. Clin Chem 1999; 45:1803-12.
28. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, et al. *Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylen glycol-modified enzymes and sulfated α -cyclodextrin*. Clin Chem 1995; 41:717-23.
29. Nauck M, Marz W, Wieland H. *New immunoseparation-based homogeneous assay for HDL-cholesterol compared with three homogeneous and two heterogeneous methods for Hdl-cholesterol*. Clin Chem 1998; 44:1443-51.
30. Halloran P, Roetering H, Pisani T, et al. *Reference standardisation and analytical performance of a liquid homogeneous*

- high-density lipoprotein cholesterol method compared with chemical precipitation method. Arch Pathol Lab Med* 1999; 123:317-26.
31. Nauck M, Graziani MS, Jaraush J et al. *A new liquid homogeneous assay for HDL cholesterol determination evaluated in seven laboratories in Europe and the United States. Clin Chem Lab Med* 1999; 37:1067-76.
32. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. *Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. Clin Chem* 2002; 48:236-54.
33. The National Cholesterol Education Program Working Group on lipoprotein measurement. *The National Cholesterol Education Program Recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: Executive Summary. Clin Chem* 1995; 41:1414-20.
34. Bachorik P. *Measurement of low-density lipoprotein cholesterol. In Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH eds: Handbook of lipoprotein testing. Washington, AACC Press* 1997; 145-60.
35. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. *Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem* 1972; 18:499-502.
36. Warnick GR, Knopp RH, Fitzpatrick W, Branson L. *Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationally recommended cutpoints. Clin Chem* 1990; 36:15-9.
37. McNamara JR, Cohn JS, Wilson PW, Schaefer EJ. *Calculated values for low-density lipoprotein cholesterol in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. Clin Chem* 1990; 36:36-42.
38. *Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study. Lancet* 1994; 344:1383-9.

39. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA et al. *The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and recurrent events trial investigators.* N Engl J Med 1996; 335:1001-9.
40. Brachi A, Rovellini A, Torri A, Sommariva D. *Accuracy of calculated serum low-density lipoprotein cholesterol for the assessment of coronary heart disease risk in NIDDM patients.* Diabetes Care 1998; 21:1397-402.
41. Sniderman AD, Blank D, Zakarian R, et al. *Triglycerides and small dense LDL: the twin Achilles heels of the Friedewald formula.* Clin Biochem 2003; 36:499-504.
42. Scharnagl H, Nauck M, Wieland H, März W. *The Friedewald formula underestimates LDL cholesterol at low concentrations.* Clin Chem Lab Med 2001; 39:426-31.
43. Miller WG, Waymack PP, Anderson FP, et al. *Performance of four homogeneous direct methods for LDL-cholesterol.* Clin Chem 2002; 48:489-98.
44. The National Cholesterol Education Program Working Group on lipoprotein measurement. *The National Cholesterol Education Program Recommendations for triglycerides measurement: Executive Summary.* Clin Chem 1995; 41:1421-6.
45. Ellerbe P, Sniegowski LT, Welch MJ. *Isotope dilution mass spectrometry as a candidate definitive method for determining total glycerides and triglycerides in serum.* Clin Chem 1995; 41:397-404.
46. Carlson LA, Wadstrom LB. *Determination of glycerides in blood serum.* Clin Chim Acta 1959; 4:197-205.
47. Carlson LA. *Determination of serum triglycerides.* J Athero Res 1963; 3:334-6.
48. van Handel E, Zilversmit DB. *Micromethod for direct determination of triglycerides.* J Lab Clin Med 1957; 50:152-7.
49. Lofland HB. *A semiautomated procedure for the determination of triglycerides in serum.* Anal Biochem 1964; 9:393-400.
50. Franzin M, Ferrero CA, Ceriotti F, et al. *Optimization of a designated comparison method (DCM) triglycerides measurement.* Clin Chem Lab Med; 37:S260 (A).

51. Cole TG, Klotzsch SG, McNamara JR. *Measurement of triglycerides concentrations*. In Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH eds: Handbook of lipoprotein testing. Washington, AACC Press 1997; 115-25.
52. Cole TG. *Glycerol blanking in triglyceride assays: is it necessary?* Clin Chem 1990; 36:1267-8.
53. Jessen RH, Dass CJ, Eckfeldt JH. *Do enzymatic analyses of serum triglycerides really need blanks of free glycerol*. Clin Chem 1990; 36:1372-5.
54. Marcovina SM, Albers JJ, Dati F, et al. *International Federation of Clinical Chemistry standardisation project for measurement of apolipoproteins A-I and B*. Clin Chem 1991; 37:1676-82.
55. Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy K. *International Federation of Clinical Chemistry standardisation project for measurement of apolipoproteins A-I and B. II Evaluation and selection of candidate reference materials*. Clin Chem 1992; 38:658-62.
56. Marcovina SM, Albers JJ, Henderson LO, Hannon WH. *International Federation of Clinical Chemistry standardisation project for measurement of apolipoproteins. III Comparability of apo A-I values by the use of common reference material*. Clin Chem 1993; 39:773-81.
57. Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H. *International Federation of Clinical Chemistry standardisation project for measurement of apolipoproteins. IV Comparability of apo B values by the use of common reference material*. Clin Chem 1994; 40:586-92.
58. Myers GL, Cooper GR, Henderson OL, et al. *Standardisation of lipid and lipoprotein measurement*. In Rifai N, Warnick RG, Dominiczak MH eds: Handbook of lipoprotein testing. AACC Press Washington 1997; 223-50.
59. Bhatnagar D, Durrington PN. *Measurement and clinical significance of Apolipoprotein A-I and B*. In Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH eds: Handbook of lipoprotein testing. Washington, AACC Press 1997; 177-98.

60. Marcovina SM, Zhang ZH, Gaur VP, Albers JJ. *Identification of 34 apolipoprotein(a) isoforms: differential expression of apolipoprotein(a) alleles between America blacks and whites.* Biochem Biophys Res Commun 1993; 191:1192-6.
61. Marcovina SM, Albers JJ, Gabel B, et al. *Effect of the number of apolipoprotein(a) kringle 4 domains on immunochemical measurements of lipoprotein(a).* Clin Chem 1995; 41:246-55.
62. Marcovina SM, Albers JJ, Wijsman E, et al. *Differences in Lp(a) concentrations and apo(a) polymorphs between black and white Americans.* J Lipid Res 1996; 37:2569-85.
63. Kronenberg F, Kronenberg MF, Kiechl S, Trenkwalder E, Santer P, Oberhollenzer F et al. *Role of lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotype in atherogenesis. Prospective results from the Bruneck study.* Circulation 1999; 100:1154-60.
64. Marcovina SM, Koschinsky ML, Albers JJ, Skarlatos S. *Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein(a) and cardiovascular disease: recent advances and future directions.* Clin Chem 2003; 49:1785-96.
65. Tate JR, Rifai N, Berg K et al. *International Federation of Clinical Chemistry standardisation project for measurement of lipoprotein(a). Phase 1. Evaluation of the analytical performance of lipoprotein(a) assays systems and commercial calibrators.* Clin Chem 1998; 44:1629:40.
66. Tate JR, Berg K, Couderc R et al. *International Federation of Clinical Chemistry standardisation project for measurement of lipoprotein(a). Phase 2. Selection and properties of a proposed secondary reference material for lipoprotein(a).* Clin Chem Lab Med 1999; 37:949-58.
67. Kulkarni KR, Garber DW, Marcovina SM, Segrest JP. *Quantification of cholesterol in all lipoprotein classes by the VAP-II method.* J Lipid Res 1994; 35:159-68.
68. Seman LJ, Jenner JL, McNamara JR, Shaefer EJ. *Quantification of lipoprotein(a) in plasma by assaying cholesterol in lectin-bound plasma fraction.* Clin Chem 1994; 40:400-3.

69. Nauck M, Winkler K, Marz W, Wieland H. *Quantitative determination of high, low and very low-density lipoproteins and lipoprotein(a) by agarose gel electrophoresis and enzymatic cholesterol staining.* Clin Chem 1995; 41:1761-7.
70. Voster HH, Cummings JH, Jerling JC. *Diet and hemostatic processes.* Nutr Res Rev 1997; 10:115-35.
71. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Procedure for the determination of fibrinogen in plasma. Approved Guidelines. Second Edition. NCCLS document H30-A2.* NCCLS Wayne, PA, 2001.
72. Ingram GIC. *The determination of plasma fibrinogen by the clot-weight method.* Biochem J 1952; 51:583-5.
73. Palareti G, Maccaferri M, Manotti C, et al. *Fibrinogen assays: a collaborative study of six different methods.* Clin Chem 1991; 37:714-9.
74. Tchemof A, Nolan A, Sites CK, et al. *Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women.* Circulation 2002; 105:564-9.
75. Blirup-Jensen S. *Protein standardization III: method optimization. Basic principles for quantitative determination of human serum proteins on automated instruments based on turbidimetry or nephelometry.* Clin Chem Lab Med 2001; 39:1098-1109.
76. Kimberly MM, Vesper HV, Caudill SP, et al. *Standardization of Immunoassays for Measurement of High-Sensitivity C-reactive Protein. Phase I: Evaluation of Secondary Reference Materials.* Clin Chem 2003; 49:611-6.
77. Rifai N, Ridker PM. *High-sensitivity C-reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease.* Clin Chem 2001; 47:403-11.
78. Langman LJ, Cole DEC. *Homocysteine.* CRC Lab Sci 1999; 36:365-406.
79. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, et al. *Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion.* Clin Chem 2004; 50:3-32.
80. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. *Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications.* Clin

Chem 1993; 39:1764-79.

81. Nelson BC, Pfeiffer CM, Sniegowski LT, Satterfield MB. *Development and evaluation of an isotope dilution LC/MS method for the determination of total homocysteine in human plasma.* Anal Chem 2003; 75:775-84.
82. Satterfield MB, Sniegowski LT, Welch MJ, et al. *Comparison of isotope dilution mass spectrometry methods for the determination of total homocysteine in plasma and serum.* Anal Chem 2003; 75,4631-8.

Stampa: Tipografia F. Marchesini - Roma

Dicembre 2005