

00524
34



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

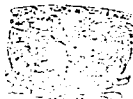
FACULTAD DE QUÍMICA

**TROPONINA: UTILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE
INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA
EDITH DE LA CRUZ FLORES



MÉXICO, D.F. EXAMENES PROFESIONALES ABRIL, 2003
FACULTAD DE QUÍMICA

1



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente	Prof. Laura Peniche Villalpando
Vocal	Prof. Ma. Del Socorro Ceci Reyna Rodriguez
Secretario	Prof. Rosalinda Velázquez Salgado
1er Suplente	Prof. Martha Alicia Menjivar Iraheta
2° Suplente	Prof. Martha Patricia Neri Paez

El tema se desarrolló en México, D.F.

ASESOR DEL TEMA



Q.F.B. LAURA PENICHE VILLALPANDO

SUSTENTANTE



EDITH DE LA CRUZ FLORES

AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

Por su apoyo incondicional, por su comprensión, dedicación, amor, en fin todo lo que ha contribuido para darme esta satisfacción profesional y personal.

A mi esposo:

Que tuvo que sacrificar algo de su tiempo por mí, esperando que comprenda la importancia que tiene este paso para mí, y que no es tiempo perdido sino invertido para un bienestar mutuo.

A mi bebé Rosario:

Por que desde que nació cambió mi vida completamente y me motiva a superarme constantemente.

A mi hermana Judith:

Por su cariño, recordándole que un bebé es un motor de superación personal, ya que hay muchos caminos para desarrollarse profesionalmente.

A mi hermano Elias:

Esperando que sea esta una forma de poner el ejemplo, en su nueva decisión de seguir estudiando, te quiero mucho y te deso mucha suerte.

A mi suegra Emilia:

Porque parcialmente debo este logro a ella, por la calidad de atención dedicada a mi hija, todas las veces que tuve que ausentarme.

A mi amiga Lety

Por su amistad y amor brindado no solo a mi sino a mi bebé.

A mis amigos:

Les dedico un cachito de mi felicidad porque de cada uno he obtenido apoyo y mucho amor en diferentes etapas de mi vida:

(A Lourdes Paredes, Valentín Gómez, Catalina Díaz, Rosalinda Velázquez, Irene Estrada, Blanca Lilia Vargas)

A mis familiares:

Con quienes he compartido muchos ratos agradables

(Sara Flores, Rosa Flores, Esperanza Flores, Guadalupe Flores, Florencia Flores, Isabel Flores, Adriana de la Cruz, Rubén de la Cruz, Felith Mejía, Alfredo Mejía, Concepción Flores y Ernesto Carvajal).

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Porque contribuyó en mi formación, no solo profesional, sino personal.

INDICE GENERAL

CONTENIDO

1. INTRODUCCION.....	7
2. INFORMACIÓN GENERAL	
2.1 PROTEINAS MUSCULARES.....	9
2.2 LAS TROPONINAS.....	15
2.3 EL PAPEL DE LAS TROPONINAS EN LA CONTRACCIÓN MUSCULAR.....	24
2.4 INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO.....	29
2.5 VENTANA DE DIAGNOSTICO PARA MARCADORES NECROSIS MIOCARDIAL.....	39
2.6 UTILIDAD CLÍNICA DE LAS TROPONINAS EN INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO.....	41
2.7 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE LAS TROPONINAS SÉRICAS.....	50
2.8 ESTANDARIZACIÓN ANALÍTICA Y CLÍNICA DE cTnl	53
3. DISCUSIÓN.....	57
4. CONCLUSIONES.....	61
5. BIBLIOGRAFÍA.....	63

INDICE DE FIGURAS

CONTENIDO

Figura 1 Representación esquemática del miocardio.....	10
Figura 2 Representación interna de la miofibrilla	11.
Figura 3 Disposición interna de la tropomiosina la troponina y la actina.....	13
Figura 4 Espectro de absorción de TnI.....	17
Figura 5 Espectro de absorción de TnT.....	17
Figura 6 Espectro de absorción de TnC.....	18
Figura 7 Diagrama de interacción entre la tropomiosina, la troponina T La troponina I y la actina	
Figura 7a) Sin unión al calcio.....	24
Figura 7b) Con unión al calcio.....	24
Figura 8 Estructura tridimensional de la troponina C de músculo esquelético que que muestra los sitios de unión al calcio.....	25
Figura 9 Estructura tridimensional de la troponina C de músculo esquelético	
Figura 9a) Sin unión al calcio.....	26
Figura 9b) Con unión al calcio.....	26
Figura 10 Diagrama del corazón, representación de las Principales arterias	
Figura 10a) Cara anterior.....	31
Figura 10b) Cara posterior.....	31
Figura 11 Síndromes coronarios agudos.....	34
Figura 12 Perfil de actividad enzimática para marcadores en el infarto agudo al miocardio.....	39
Figura 13 Perfil de concentración-tiempo para marcadores de necrosis del miocardio.....	40
Figura 14 Propuesta para el uso de más de un marcador en la evaluación de infarto agudo al miocardio.....	49

INDICE DE TABLAS

CONTENIDO

Tabla 1 Pesos moleculares de los tres tipos de troponinas.....	15
Tabla 2 Composición de aminoácidos para cada tipo de troponina.....	16
Tabla 3 Composición de aminoácidos de troponina I de dos diferentes músculos esqueléticos y de músculo cardíaco, en humanos..	19
Tabla 4 Identificación de péptidos reconocidos por anticuerpos monoclonales anti-cTnI humana.....	21
Tabla 5 Diferentes formas en que se encuentran la cTnI y la cTnT en la circulación.....	22
Tabla 6 Condiciones ideales de los marcadores cardíacos.....	36
Tabla 7 Ventana de diagnóstico para marcadores de necrosis miocárdica.....	40
Tabla 8 Sensibilidad y especificidad clínica para los marcadores cTnI cardíaca, la CK-MB y la mioglobina.....	46
Tabla 9 Sensibilidad y especificidad clínicas de cTnI, después de presentarse al centro médico, determinaciones hechas en los autoanalizadores AxSYM y Stratus.....	47
Tabla 10 Sensibilidad y especificidad clínica de cTnI, desde el momento de presentarse el dolor de pecho, determinaciones en los autoanalizadores AxSYM y Stratus.....	47
Tabla 11 Tiras reactivas empleadas para determinar cualitativamente las troponinas I y T cardíacas.....	51
Tabla 12 Principales métodos disponibles para determinar cuantitativamente las troponinas T y I cardíacas.....	52

INTRODUCCIÓN

En México las enfermedades del corazón representan el primer lugar como principal causa de mortalidad general, con 68 677 defunciones en el año 2000 (INEGI), donde las enfermedades de tipo isquémico representan el 64%, en hospitales privados la morbilidad fue de 5 605 pacientes diagnosticados con Infarto Agudo al Miocardio, de los cuales el 21.7% (tasa anual) falleció a causa de la enfermedad⁽¹⁾.

El Infarto Agudo al Miocardio es una verdadera urgencia médica, dentro de los primeros 30min. que siguen al dolor de pecho, ocurren la mayor parte de las complicaciones (del 30 al 40%), por lo que su mortalidad es elevada dentro de las primeras horas. Por esencia, el infarto al miocardio es una enfermedad sorpresiva que hasta dentro de treinta días después (para otros hasta noventa días) puede complicarse con un accidente súbito. Es por eso que debe ser vigilado precozmente⁽²⁾.

Para hacer un diagnóstico de Infarto Agudo al Miocardio, en la rutina clínica se emplean marcadores séricos que son proteínas que se liberan de las células miocárdicas dañadas, sin embargo su especificidad y sensibilidad diagnósticas no son suficientes para descartarlo de forma segura, y puede darse de alta a un paciente con consecuencias fatales, por lo que debe detectarse tempranamente para prevenir futuros infartos⁽³⁾. La otra herramienta potencial es el electrocardiograma (ECG) donde se registran los impulsos eléctricos que indican el estado del corazón, aunque hay casos donde no se presentan cambios aún en presencia de Infarto Agudo al Miocardio⁽⁴⁾.

En la actualidad las troponinas son estudiadas y se intenta confirmar sus ventajas sobre los marcadores empleados dentro del perfil cardiaco, incluyendo el estándar de oro, CK-MB⁽⁵⁾. En este trabajo se presentan los resultados de diversas investigaciones a través de una revisión bibliográfica para determinar su utilidad como marcadores séricos para detectar necrosis del miocardio específicamente para Infarto Agudo al Miocardio.

2. INFORMACIÓN GENERAL

2.1 Proteínas musculares

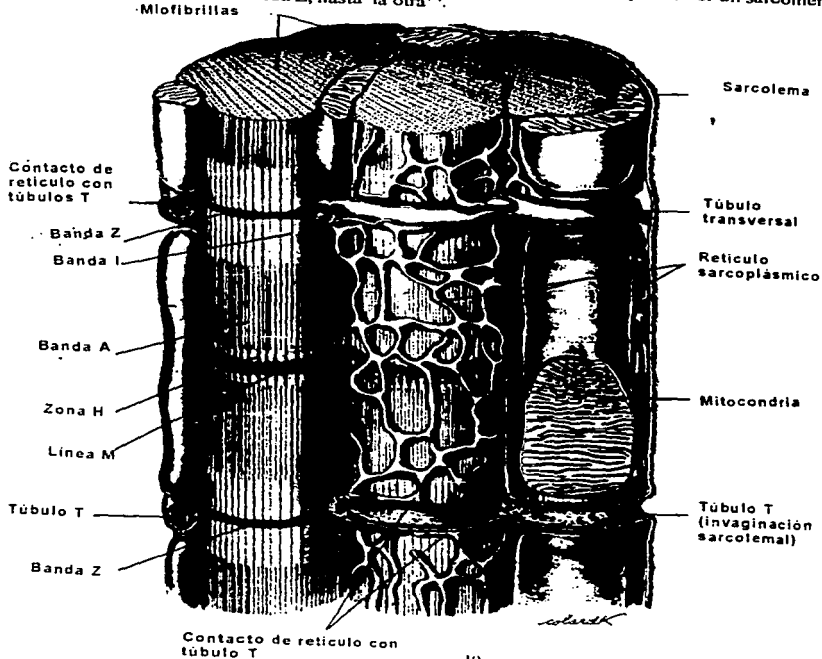
En el organismo podemos distinguir tres tipos de músculo funcionalmente diferentes: el músculo esquelético, el músculo cardíaco y el músculo liso. El músculo esquelético y el cardíaco por su morfología microscópica se consideran estriados, y tienen mecanismos de contracción semejantes. El músculo liso se encuentra en la mayor parte de los órganos internos y cuenta con una organización interna diferente, pero las bases químicas de la contracción son semejantes al músculo estriado. El músculo esquelético se divide en dos tipos de músculos, el músculo rojo y el músculo blanco, el primero está constituido por fibras tipo I, es un músculo que responde con lentitud y tiene larga latencia, y está adaptado a las contracciones largas y lentas para mantener la postura. Los músculos largos de la espalda son músculos rojos. Los músculos blancos contienen fibras tipo II, son músculos con sacudidas de corta duración y se especializan en los movimientos finos de destreza, como los músculos de la mano. El músculo rojo constituido por fibras tipo I y por sus características ya mencionadas se le conoce como músculo lento, mientras que el blanco con fibras del tipo II, se le denomina rápido⁽⁶⁾.

El músculo cardíaco presenta fibras que tienen el mismo aspecto estriado que las fibras del músculo esquelético. Esta es la razón por la cual el músculo cardíaco o miocardio es similar en el mecanismo de contracción, así como en las proteínas musculares que intervienen: actina (peso molecular 46Kd), miosina (peso molecular 43Kd) y troponina (con peso molecular entre 18 y 35Kd), sin embargo a diferencia del músculo esquelético, las fibras del músculo cardíaco están interconectadas entre sí y forman una redcilla que se llama sincicio. En el corazón existen dos sincicios musculares separados, uno de ellos es el músculo cardíaco que envuelve a las aurículas, y el otro es el que envuelve a los ventrículos. Por estos sincicios es por donde se propaga el potencial de acción capaz de contraer las aurículas para que estas expulsen sangre hacia los ventrículos, y por otro lado se contraen los ventrículos para bombear sangre a las arterias⁽⁷⁾.

Los mecanismos y procesos moleculares que explican la contracción muscular en el músculo estriado ocurren en el sarcómero de la miofibrilla, la comprensión de ellos depende del entendimiento de la organización de la estructura del sarcómero. La miofibrilla es un conjunto de compartimentos cilíndricos que se van ubicando uno al lado del otro,

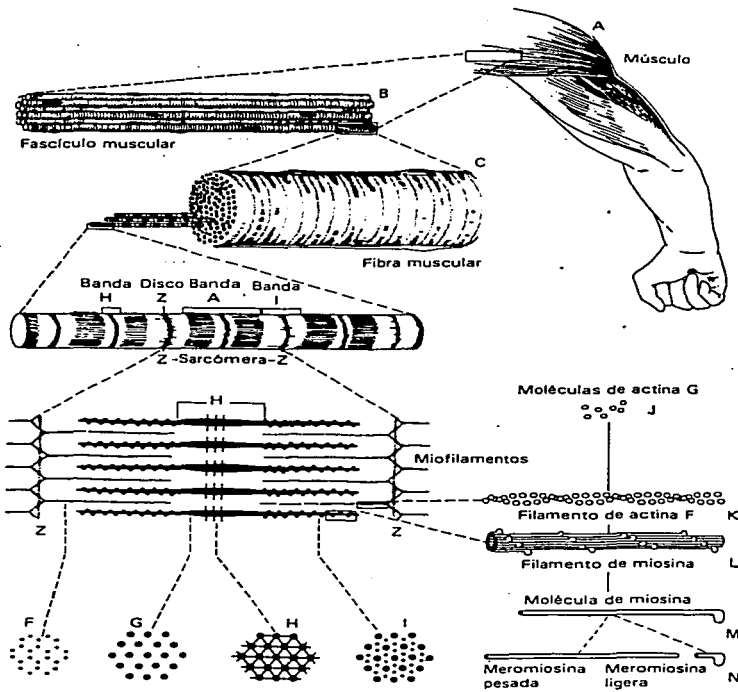
constituyendo un cilindro alargado, dentro de ellas hay gránulos de glucógeno, mioglobina, lípidos, sustancias ricas en energía como fosfocreatina, proteínas contráctiles y proteínas reguladoras, estas proteínas forman manchas claras y oscuras, (ver fig. 1 y 2) las bandas claras tienen una línea más oscura o Z (proteína contráctil), el espacio entre dos líneas Z se denomina sarcómero y constituye la unidad funcional del tejido muscular⁽⁸⁾.

Fig. 1 Representación esquemática del miocardio, donde se puede ver un sarcómero completo de la banda Z, hasta la otra⁽⁸⁾.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig. 2 Representación interna de la miofibrilla⁽⁶⁾



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

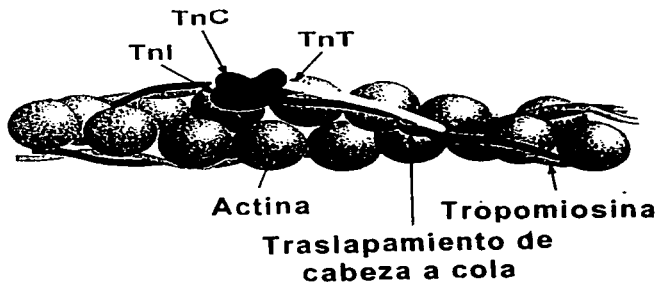
Los músculos están compuestos por dos tipos de filamentos: los delgados y los gruesos, los delgados llamados F-actina, son cadenas dobles de esferas, en las que cada esfera es una molécula de actina formando una cadena polipeptídica, cada actina hace contacto con otras cuatro esferas de actina, las cadenas de actina están compuestas de cuatro subdominios, estos subdominios rodean los sitios de unión a iones divalentes (Ca^{2+} o Mg^{2+}) y nucleótidos (ATP o ADP), esto representa una base estructural para la polimerización de la actina y la estructura del filamento delgado. El modelo atómico de F-actina, puede ser visto como dos hebras de estructura helicoidal superenrolladas entre sí, una vuelta completa está constituida por 13 unidades de actina, entre las cuales no existen enlaces covalentes, pero se unen con firmeza necesaria para resistir la contracción muscular. Los subdominios 3 y 4 de F-actina se localizan axialmente en la segunda hebra, los subdominios 1 y 2 se localizan en la periferia del filamento exponiéndose a solventes y disponibles para interactuar con miosina. En particular el subdominio 1 contiene ambos grupos terminales amino y carboxilo, que juegan un papel importante en la interacción con la miosina⁽⁹⁾.

Los filamentos gruesos están compuestos de miosina, y se localizan en el centro del sarcómero, cada filamento está formado de 150 a 360 moléculas de miosina, a su vez cada molécula de miosina presenta una cola formada por dos fibras alargadas de meromiosina, que es una variedad de miosina considerada liviana, la cola se continua con un segmento llamado cuello que se une a una estructura de la molécula llamada cabeza o subfragmento 1 (S1), que es una estructura bífida, al conjunto de la cabeza y cuello se le llama meromiosina pesada, el segmento de unión de la cola con la porción cuello cabeza parece funcionar como una articulación y tiene cierto grado de movimiento, cada cabeza tiene ATP y propiedades ATP-ásicas, y son las responsables de interactuar con los filamentos de actina para generar fuerza durante la contracción⁽¹⁰⁾.

El sarcómero normalmente se encuentra rodeado de un sistema membranoso, el retículo sarcoplasmático, presenta en su centro una zona más oscura (banda A) formada por las bandas de miosina que está separada, a cada lado, de las bandas Z por una zona más clara (banda I) ocupada por los filamentos de actina, en reposo los filamentos de miosina están rodeados ordenadamente por filamentos de actina de modo que en los extremos de la

banda A ambos tipos de filamentos coinciden aunque permanecen separados, esto ocurre porque sobre los filamentos de actina se ubican dos proteínas, la troponina (Tn) y la tropomiosina (Tm) que constituyen un complejo que evita esta unión⁽¹¹⁾ (Fig. 3).

Fig. 3 Disposición de la tropomiosina, la troponina y la actina⁽¹⁴⁾



La tropomiosina es una molécula larga y delgada, formada por un homodímero o heterodímero de dos cadenas alfa-hélices enroscadas en una estructura superenrollada, su estabilidad se debe a interacciones hidrofóbicas entre lados no-polares de la cadena, debidas a los aminoácidos, cada cadena contiene 284 residuos, y cada hebra de tropomiosina abarca siete monómeros de actina de la hebra de F-actina. Las cadenas de tropomiosina son producto al menos de dos genes con expresión variable en diferentes tipos de músculo, estas moléculas se encuentran en línea, una tras otra, unidas a siete monómeros de actina. La tropomiosina se traslapa de cabeza a cola con una periodicidad de 38.5nm a través del delgado filamento de F-actina. La unión de tropomiosina a F-actina es influenciada por interacciones entre tropomiosina y los monómeros de actina de tipo electrostático en la periferia, por cada molécula de tropomiosina existe una de troponina⁽¹²⁾.

El complejo de troponina (Tn), compuesto por tres subunidades diferentes: la troponina T, la troponina C, y la troponina I, se encuentra solo en músculo estriado⁽¹³⁾.

2.2 Las troponinas

La troponina fue descubierta y nombrada así por Ebashi y Kodama^(14,15), en 1963. Poco después varios investigadores trabajaron separando los diferentes tipos de troponinas, entre ellos destacan los trabajos de Hartshone y Mueller⁽¹⁶⁾, Schaub, M. C., Perry⁽¹⁷⁾, y Drabidokowski⁽¹⁸⁾, finalmente Greaser y Gergely⁽¹⁹⁾ separaron la troponina en tres componentes activos (tabla 1), los cuales designaron como:

- Troponina I (subunidad inhibitoria), TnI
- Troponina C (subunidad fijadora de calcio, Ca^{2+}), TnC, y
- Troponina T (subunidad fijadora de tropomiosina), TnT.

Tabla 1 Pesos moleculares de los tres tipos de troponina

Tipo de troponina	Abreviatura	Peso molecular
Troponina I	TnI	24Kd
Troponina C	TnC	20Kd
Troponina T	TnT	37Kd

La composición de aminoácidos de los tres tipos de troponina⁽¹⁹⁾ se observa en la tabla núm. 2. Los aminoácidos con carga representan el 40% del total de los residuos en cada proteína.

Tabla 2. Composición de aminoácidos para cada clase de troponina
(Residuos por 10⁵ daltons).

Aminoácidos	TnI	TnT	TnC
Lisina	108	123	53.1
Histidina	21.4	20.5	5.9
Arginina	62.8	75.2	37.6
Acido aspártico	84.1	67.5	127.0
Treonina	29.7	20.5	30.6
Serina	48.6	29.7	36.7
Acido glutámico	138	194	190.0
Prolina	38.7	41.0	10.9
Glicina	46.5	27.6	69.0
Alanina	73.2	85.1	69.9
Valina	50.4	38.3	38.6
Metionina	29.9	14.4	50.2
Isoleucina	29.3	27.8	49.4
Leucina	85.1	65.8	49.0
Tirosina	15.8	14.4	10.0
Fenilalanina	21.0	17.4	50.3
Acido cisteínico	12.0	<0.1	5.0
Triptófano	8.2	5.6	0

Los espectros de absorción U.V. de la TnT y la TnI muestran un máximo de 277 a 278nm, y un mínimo aproximadamente a 250nm, así como un cambio de pendiente a 290nm que indica la presencia del triptófano (fig. 4 y 5). En el espectro de la TnC, se observan varios picos: a 253, 259, 265, 269 y 276nm el último pico se atribuye a presencia de tirosina y los demás picos al resultado de alto contenido de fenilalanina⁽¹⁹⁾ (fig.6).

Fig. 4. Espectro de absorción de TnI. Los valores corresponden a concentraciones de 1 mg/ml.

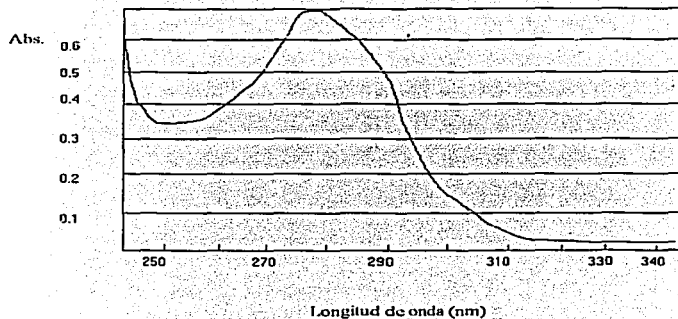


Fig. 5. Espectro de absorción de TnT

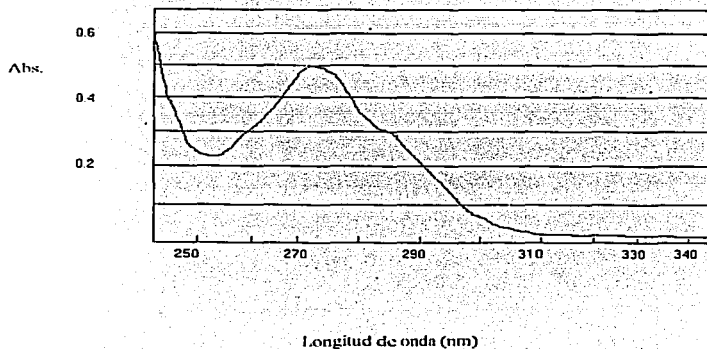
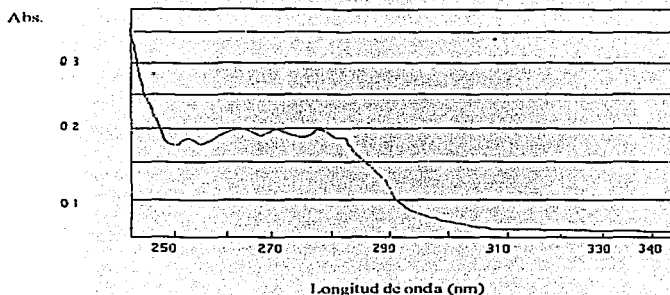


Fig. 6. Espectro de absorción de TnC, los valores corresponden a 1mg/ml. de proteína



La miosina, tropomiosina, y las troponinas (TnT, TnC, y TnI), existen en formas polimórficas que son características del tipo de músculo del cual forman parte: músculo esquelético rápido, músculo esquelético lento y músculo cardíaco, y son producto de diferentes genes⁽²⁰⁾.

En 1978, Peter Cummins y Victor Perry⁽²¹⁾, demostraron que las isoformas de la TnI de músculo esquelético y cardíaco son química e inmunológicamente diferentes, reportaron la composición de aminoácidos de músculo esquelético rápido, músculo esquelético lento y músculo cardíaco (tabla 3), la proporción de aminoácidos en diferentes músculos esqueléticos es similar, sin embargo al compararla con la composición de aminoácidos de músculo cardíaco se aprecian diferencias claras.

Tabla 3 Composición de aminoácidos de troponina I de dos diferentes músculos esqueléticos y de músculo cardíaco, en humanos.

Aminoácidos	Músculo esquelético <i>Rectus abdominus</i>	Músculo esquelético <i>Biceps</i>	Músculo cardíaco
Lisina	22	24	20
Histidina	6	5	3
Arginina	16	17	23
Ácido aspártico	18	17	17
Treonina	7	6	9
Serina	11	11	15
Ácido glutámico	28	29	32
Prolina	8	7	10
Glicina	10	8	12
Alanina	14	15	26
Valina	11	11	6
Metionina	7	8	2
Isoleucina	5	4	8
Leucina	18	19	22
Fenilalanina	4	3	4
Tirosina	2	2	4

Los resultados se expresan como número de residuos de aminoácidos por 23506g de proteína.

Los mismos investigadores realizaron pruebas Ouchterlony con anticuerpos anti-troponina I cardíaca humana (anti-cTnI), contra la troponina cardíaca humana I, las troponinas de músculo esquelético rápido y lento, así como contra la TnT y la TnC, demostrando que no existía reacción cruzada entre los anticuerpos anti-cTnI humanos y las isoformas de músculo esquelético, ni tampoco con las subunidades de la troponina (TnT y TnC).

La TnI es codificada por tres genes diferentes y se expresan diferencialmente por el músculo esquelético rápido y lento, así como por músculo cardíaco, la cTnI es únicamente específica del corazón, el residuo N-terminal de la cTnI marca la diferencia con las isoformas de TnI de músculo esquelético. Las isoformas de músculo esquelético rápido y lento de la troponina I, tienen pesos moleculares similares de 19800 D y muestran un 40% de heterogenicidad en su secuencia de aminoácidos, el isotipo de músculo cardíaco cTnI contiene 32 residuos extras en posición N-terminal que le da un peso molecular mas alto que el de las isoformas de músculo esquelético (de 24 Kd), además solo se localiza en miocardio y se expresa tanto en aurícula como en ventrículo, presenta una homología de

secuencia aminoacídica del 52 y el 54%, con las troponinas I de músculo esquelético rápido y lento, respectivamente⁽²²⁻²³⁾.

La cTnI no es una proteína globular como se pensaba, es una proteína del tipo alfa con cinco regiones en forma de hélices, que presenta una conformación extendida, lo que permite que muchas regiones queden expuestas, y por lo tanto mas secuencias de aminoácidos sean reconocidas por sistemas inmunoenzimáticos. La mayoría de la secuencia de la troponina I es antigénica, aunque las regiones antigénicas más fuertes se encontraron en los residuos amino terminal (N-terminal) y carboxilo terminal (C-terminal), de la cadena polipeptídica de la cTnI humana, esto es de suma importancia en la detección de la cTnI por métodos inmunoenzimáticos⁽²⁴⁾.

Los resultados de Ferrieres y colaboradores⁽²⁵⁾ explican la especificidad del anticuerpo mAb11E12, ya que se encontró que este anticuerpo reconoce los residuos del 26 al 36 (secuencia *RAYATTTPHAK*, ver tabla 4), parte de la cadena N-terminal de 32 residuos que se presenta solo en la isoforma cardiaca de TnI. Un mejor conocimiento de las propiedades antigénicas de la troponina I permitirá el desarrollo de anticuerpos con características de afinidad y especificidad mejores. El objetivo de la investigación fue la identificación de regiones antigénicas específicas (conocidas como epitopes) de la TnI por un panel de 16 anticuerpos monoclonales. Los resultados suministraron una descripción completa de la estructura antigénica, y un modelo de la organización estructural de la cTnI.

También se identificaron los epitopes específicos con los que reaccionaron los anticuerpos monoclonales 10B11, 3B9, 8D5, 3B8 y 3C6, lo que constituye una arma mas en la inmunodetección de las isoformas cardiacas de TnI, como es el caso del anticuerpo 11E12.

La troponina T se expresa al igual que la TnI, por tres diferentes genes, resultando las isoformas de músculo esquelético rápido y lento, así como la forma cardiaca que se codifica por un gen separado, sin embargo se sabe que la cTnT presenta 4 isoformas diferentes que se expresan durante el desarrollo fetal y en enfermedad del miocardio, y algunas tienen reacción cruzada con las isoformas de músculo esquelético⁽²⁶⁾.

Tabla 4 Identificación de péptidos reconocidos por anticuerpos monoclonales, anti-cTnI humana.

Anticuerpo monoclonal (mAb)	Secuencia de aminoácidos reconocida por el anticuerpo monoclonal	Posición del epítopo
10B11	RPAPAPRRR PAPRRSSN	16-22
319	NYRAYATEPI	28-34
318	NYRAYATEPI	
3C6	AYATEPIAKK	
11B12	NYRAYATEPI AYATEPIAKK TEPIAKKKSK	31-34
10F4	AYATEPIAKK TEPIAKKKSK IAKKKSKISA	34-37
8E10	LIGLEAELQ	88-94
2A3	LQEAELQDLG	
5F1	LIGLEAELQ AELQDLCRQL	91-94
2H6	RISADANMQA	151-157
8G12	ADAMMQALIG	

La forma en que circula la cTnI, y los cambios químicos que sufre una vez que es liberada en la circulación son de especial interés en la creación de métodos inmunoquímicos. La TnI y la TnC interactúan fuertemente, y su interacción o unión depende de la saturación de los sitios de calcio en la TnC, en presencia de este hay una interacción fuerte entre ambas troponinas formándose el complejo TnI-TnC, se han encontrado sitios múltiples de interacción entre la TnI y la TnC, en presencia de Ca^{2+} la TnI envuelve aproximadamente la parte central de la hélice de la TnC formándose contactos con los dominios C y N-terminales, que contienen los sitios de unión a calcio⁽²⁷⁾. Isabelle Giuliani y colaboradores⁽²⁸⁾ confirmaron que el complejo predominante de la cTnI, es la forma unida a la TnC (IC), ya que es el complejo que cuenta con la constante de asociación más grande, y por lo tanto es la forma más estable, aunque la TnI interactúa con la TnI y la TnC, este tipo de interacción no es tan fuerte como la del complejo TnI-TnC (ver tabla 5).

Tabla 5 Diferentes formas en que se encuentran cTnI y cTnT en la circulación.

Formas de troponina	Troponina I	Troponina T
✓ Troponina libre	En baja concentración	Forma predominante
✓ Complejo binario	Forma predominante cTnI-cTnC (IC).	No existe complejada con TnC, ya que forma un complejo poco estable.
✓ Complejo binario	Forma complejo binario con TnT (IT)	Forma complejo binario con cTnI (IT)
✓ Complejo terciario	Rara vez presente el complejo cTnI-cTnT-TnC.	Rara vez presente el complejo cTnI-cTnT-TnC.
✓ Forma oxidada o reducida	Ambas formas se encuentran presentes en plasma. La secuencia de aminoácidos contiene dos cisteínas.	No existe en esta forma, la secuencia de aminoácidos no contiene cisteínas.
✓ Fosforilada	Mono, y difosforilada	No se fosforila

La cTnI aparte de circular complejada o libre, sufre otros cambios químicos:

- ✓ La cTnI se fosforila en diferentes sitios, por proteína cinasa dependiente de AMPc, y por proteína cinasa C dependiente de fosfolípidos. La fosforilación de serina-23 y ser-24, cambian la conformación de la molécula de TnI y afectan la interacción de la cTnI con ciertos anticuerpos monoclonales⁽²⁹⁾.

- ✓ La cTnI humana contiene 2 residuos de Cisteína (Cys-80 y Cys-97) que cuentan con grupos sulfhidrilo (-SH) que pueden oxidarse y de esta forma afectar la unión, antígeno anticuerpo⁽³⁰⁾.

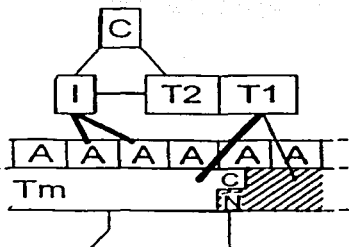
- ✓ Katruka y colaboradores⁽³¹⁾ señalan que la necrosis del tejido cardíaco causada por el infarto se acompaña por liberación de enzimas proteolíticas. Las regiones N-terminal y C-terminal de la cTnI se unen con rapidez a las proteasas, la cTnI es altamente susceptible de proteólisis, la necrosis induce su degradación, esto significa que dependiendo del tiempo transcurrido desde el principio de Infarto Agudo al Miocadio, y el tamaño de la zona del infarto, la sangre de los pacientes, puede contener cantidades de cTnI intacta y de sus fragmentos proteolíticos, los cuales pueden a su vez circular en formas libres o complejas con los dos otros componentes de la troponin, en este mismo estudio los investigadores determinaron que los fragmentos de la cTnI presentan estabilidades diferentes, y determinaron que la región localizada entre los residuos de aminoácidos 33 y 110 muestran alta estabilidad, por lo tanto los anticuerpos seleccionados para el inmunoensayo contra esta proteína podrían reconocer preferencialmente epitopes localizados en la zona 33-110.

2.3 El papel de las troponinas en la contracción muscular

Las figs. 7a y 7b muestran a detalle la interacción de las troponinas con actina, tropomiosina y Ca^{2+} . La tropomiosina se traslapa de cabeza a cola con el residuo N-terminal (grupo amino, $-\text{NH}_2$ terminal de la cadena polipeptídica) de la troponina T, el C-terminal (grupo carboxilo, $-\text{COOH}$ terminal de la cadena polipeptídica) de la TnT interactúa con la TnC y la TnI y, a su vez, la TnI interactúa con actina⁽³²⁾.

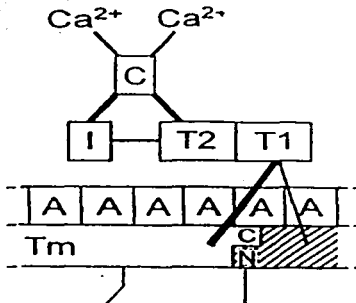
Diagrama que indica la interacción entre la tropomiosina, la troponina T, la troponina I y la actina⁽³⁴⁾.

7a) Sin unión al Calcio



Cis Traslapamiento
190 de cabeza a cola

7b) Con unión al Calcio



Cis Traslapamiento
190 de cabeza a cola

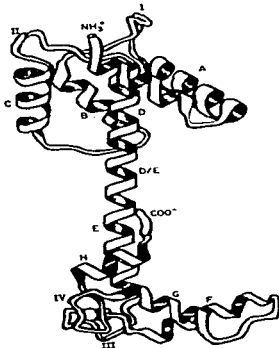
La letra A, representa actina; I, troponina I; C, troponina C; T1, grupo amino terminal de troponina T; T2, residuo carboxilo terminal de troponina T; Tm, tropomiosina con N- y C- terminales que indican el traslapamiento de cabeza a cola. Las líneas gruesas indican unión fuerte, y las delgadas unión débil.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Como se observa en la fig.8 la unión de calcio a troponina C incrementa la unión entre la TnC y la TnI, así como la de TnC y TnT2, en cambio las interacciones entre la TnI y la actina se vuelven débiles.

La troponina C contiene 2 dominios (ver fig. 8), uno NH₂-terminal y otro COOH-terminal, conectados por una hélice central larga con nueve vueltas, donde no hay interacciones evidentes, cada región contiene a su vez 2 posibles sitios de unión a Ca²⁺, los sitios de unión de COOH-terminal, se llaman III y IV, tienen alta afinidad al Ca²⁺ y suficiente afinidad al Mg²⁺ para unirse bajo condiciones relajadas, estos sitios son llamados estructurales ya que la unión de Ca²⁺ y Mg²⁺ a éstos incrementan la interacción TnC-TnI, y unen la TnC al filamento delgado de actina, estos sitios no están involucrados en los cambios conformacionales debido a que están ocupados por un ión metálico en ambos estados, relajado y contraído. Los otros sitios NH₂-terminales I y II, son sitios de baja afinidad a Ca²⁺, llamados fisiológicos y presentan alta selectividad al Ca²⁺ con respecto al Mg²⁺, son responsables de la función regulatoria de la proteína, la unión a estos sitios se acompaña de cambios estructurales⁽³³⁾.

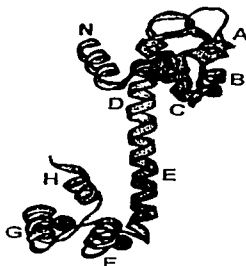
Figura 8. Estructura tridimensional de la troponina C de músculo esquelético, que muestra los sitios de unión a Calcio⁽³³⁾



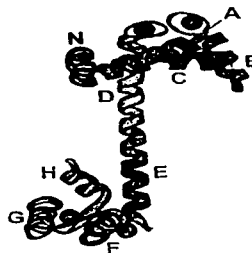
La estructura tridimensional de la troponina C de músculo esquelético, sin unión al Ca^{2+} , y con unión a Ca^{2+} , se ilustra en las fig. 9a y 9b, los dominios de la TnC se pliegan de tal forma que aprietan la molécula de calcio formando un par estable de la molécula de Ca^{2+} con otras proteínas; para comprender mejor el modelo, imaginemos nuestra mano derecha, el dedo índice y el pulgar representan las hélices H y E, y los demás dedos forman la estructura espiral que aprieta la molécula de calcio, sin unión a Ca^{2+} las hélices B-C son paralelas una a otra, en el NH_2 -terminal se produce una estructura cerrada donde las hélices B-C son plegadas hacia abajo, a lo largo de la hélice central. Cuando el Ca^{2+} está unido a la TnC, las hélices B-C adoptan una orientación perpendicular, la estructura se abre, exponiendo los aminoácidos hidrofóbicos de la cadena central, que es donde se piensa interactúa con la TnI⁽³⁴⁾.

Estructura tridimensional de la troponina C de músculo esquelético⁽³⁴⁾

9a) Sin unión a Ca^{2+}



9b) Unión a Ca^{2+}



Los círculos sólidos representan moléculas de Ca^{2+} . Las letras de la A -H corresponden a las hélices, N es el grupo amino terminal y C el grupo carboxilo terminal de la cadena polipeptídica.

En la TnC cardíaca (cTnT), la estructura NH_2 -terminal se cierra, se una o no al Ca^{2+} ⁽³⁴⁾, y su estructura es semejante a la troponina C esquelética sin unión al Ca^{2+} , existe un cambio pequeño en la superficie hidrofóbica expuesta, en la unión a Ca^{2+} , después de unirse éste, la molécula no se abre y requiere de la unión de la cTnI para forzar la abertura

de la estructura, esta unión se dificulta, y representa una gran diferencia en la secuencia de eventos durante la regulación de Ca^{2+} del músculo esquelético y cardíaco, numerosos estudios de cinética de unión de Ca^{2+} a la TnC, muestran mayores diferencias entre las isoformas cardíacas y esqueléticas^(35,36).

La TnI es la subunidad que mantiene juntas las troponinas T y C, muchas de sus interacciones son reguladas por Ca^{2+} , inhibe la actomiosina ATPasa en presencia de la Tm, y esta inhibición es removida por la TnC. La acción inhibitoria de la TnI se ha asociado con la parte central de la secuencia de aminoácidos (residuos 98-116) llamada región inhibitoria, la región C-terminal, está involucrada en las interacciones TnC-TnI y actina-TnI, estas interacciones son importantes para la acción inhibitoria y el mantenimiento de la inhibición en presencia y ausencia de Ca^{2+} ⁽³⁷⁾. La región entre los residuos 137-144, ha mostrado una homología con los residuos 108-115, en la región inhibitoria, y está involucrada en la unión a la TnC, la región entre los residuos 98-129 está involucrada en la modulación de la afinidad de la TnC a Ca^{2+} , los residuos COOH-terminales 166-182 están involucrados en la unión de la TnI al filamento delgado⁽³⁸⁾. El sitio con los residuos 140-148, muestra una secuencia homóloga con la región inhibitoria de troponina I, y representa un segundo sitio mas de unión a la actina, la unión de la TnI y la actina no es responsable de la inhibición de actina directamente, debido a que la TnI está presente en una proporción 1:7 con respecto a la actina⁽³³⁾.

El Ca^{2+} provoca interacciones entre el dominio NH_2 -terminal de la TnC : que incluye la región hidrofóbica, y expone los sitios de unión a Ca^{2+} I y II con los residuos 116-131 de la TnI, la unión de Ca^{2+} a estos sitios provoca que los residuos 96-116 y 140-148 de la TnI se acerquen a los sitios de unión de actina, los residuos 96-116 de la TnI se unen al dominio COOH-terminal de la TnC (fig.7), la unión de la TnI a la TnC es fortalecida por Ca^{2+} a través de interacciones específicas del grupo NH_2 -terminal de la TnC, la unión de Ca^{2+} a la TnC aleja la TnI de la actina, estos cambios dependientes de Ca^{2+} en TnC-TnI debilitan la unión de la TnI y la actina⁽³²⁾.

La TnT parece ser un pegamento estructural que mantiene juntos el complejo troponina -troponosina, en esta posición la TnT juega varios roles en la regulación de Ca^{2+} . La región globular COOH-terminal de TnT (señalada en el esquema como TnT2) interactua con TnC, TnI y tropomiosina, extendiéndose hasta la región NH-terminal de

TnT (señalada en el esquema como TnT1), orientada por la región COOH-terminal de la Tm, la troponina T influye en la flexibilidad de la Tm. La región traslapada de la Tm muestra gran flexibilidad y es responsable de la afinidad hacia la actina, la interacción de la TnT con TnC-TnI-Tm y actina, ayuda a determinar la posición de la Tm en el delgado filamento⁽³³⁾.

El papel de las troponinas se comprende mejor dentro del proceso de contracción-relajación del músculo, el cual puede verse como un ciclo. Cuando el músculo está contraído, las cabezas de miosina y actina se unen formando un complejo, estructuralmente aparece como un puente, al formarse se activa la capacidad ATPásica de la cabeza de miosina y el ATP presente en la cabeza de la miosina se disocia en ADP + Pi (fósforo inorgánico), proceso que requiere de una cierta cantidad de Mg^{2+} , la salida de fosfato de la cabeza de la cabeza de miosina provoca un giro o un movimiento de la cabeza lo cual hace que se desplace el filamento de actina a lo largo de la miosina hacia el centro del sarcómero, esto significa que las bandas α también son arrastradas hacia el centro del sarcómero resultando en un acortamiento de la estructura, esto se traduce en reducción o desaparición de las bandas I, la contracción es estimulada por la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico, y es captado por la troponina C, la unión de calcio a los sitios I y II, promueve a su vez la interacción de la TnC y la TnI, retirándole la acción inhibitoria a la troponina I. El reposo o relajación del músculo, comienza cuando el ATP que se perdió de la cabeza de miosina es recuperado a expensas del ATP del sarcoplasma, al ocupar este su posición, la cabeza de miosina se suelta de la actina y el sarcómero recupera su longitud inicial. En este momento la troponina I se une a la actina, desplazando a la tropomiosina ligada a la troponina T hacia una ubicación que provocará un impedimento estérico para la interacción entre miosina y actina⁽³⁹⁻⁴³⁾.

2.4 Infarto Agudo al Miocardio

El corazón es una bolsa compuesta por músculos con vasos sanguíneos que entran y salen de él, está situado entre los pulmones, a la izquierda del tórax, apoyado sobre el diafragma, detrás del esternón, la masa muscular que lo constituye recibe el nombre de miocardio y está formada por tejido muscular de tipo cardíaco, que se caracteriza por no estar sometido a voluntad, sino que funciona de manera automática, el interior del corazón está dividido en cuatro cámaras (dos aurículas y dos ventrículos) separadas por unas válvulas llamadas tricúspide (a la derecha) y mitral (a la izquierda), unas gruesas paredes musculares separan la parte derecha a izquierda del corazón, que actúan como dos corazones coordinados: la parte izquierda para la sangre arterial (rica en oxígeno), y la derecha para la venosa (pobre en oxígeno)⁽⁴⁴⁾.

La función del corazón es bombear la sangre a todas las células del organismo. La sangre recoge oxígeno a su paso por los pulmones y circula hasta el corazón para ser expulsada a todas las partes del cuerpo, donde descargará el oxígeno (incluidos los propios pulmones y corazón que también lo necesitan), después de su viaje por todo el cuerpo, la sangre queda sin oxígeno y es enviada de nuevo al corazón para que éste la bombee a los pulmones "para recoger mas oxígeno", así se completa el ciclo para impulsar la sangre por los vasos de todo el cuerpo, el corazón se contrae y se relaja rítmicamente, la fase de contracción se llama sístole, que corresponde a la expulsión de la sangre fuera de la cavidad, a esta fase sistólica, le sigue una fase de relajación muscular llamada diástole, en la que se pueden distinguir dos etapas: una de relajación y otra de succión para arrastrar la sangre hasta el interior. El ritmo cardíaco, la intensidad y la fuerza de contracción y relajación están regulados por los centros situados en el hipotálamo (en el cerebro), que elaboran los impulsos nerviosos adecuados, y por sustancias químicas como la adrenalina y noradrenalina que son hormonas que actúan sobre el corazón⁽⁴⁵⁾.

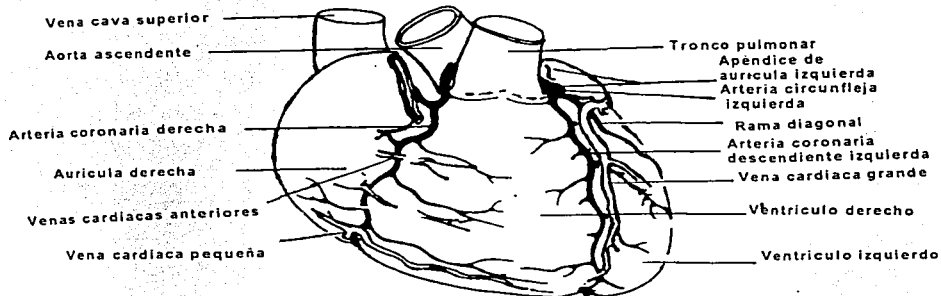
Existen diferentes tipos de vasos sanguíneos cada uno tiene una función diferente y aunque algunos órganos tienen un aporte circulatorio altamente especializado (como los riñones y el hígado), los componentes básicos que irrigan a la mayoría de los tejidos y los órganos consisten en: arteria, arteriola, capilar, vénula y vena. Las arterias sirven para aportar sangre oxigenada a los diversos órganos, en el caso del corazón, estas tienen una pared muscular relativamente gruesa para mitigar los latidos que genera el corazón, la luz

de las arterias varía desde varios centímetros de diámetro hasta ramificaciones diminutas de 1 mm de diámetro, las ramas más pequeñas de las arterias son las arteriolas, pequeños vasos de la pared muscular gruesa que regulan la resistencia al flujo a través de los diversos órganos y tejidos del cuerpo, controlando así la cantidad de sangre hacia esas regiones. El grado de contracción de estas arteriolas, similares a esfínteres, no solo regula la cantidad de flujo sanguíneo hacia un órgano, sino que cuando está involucrado un número suficiente grande de arteriolas, se ve afectada la presión en las grandes arterias que la anteceden. Los capilares son vasos muy pequeños que tienen paredes delgadas a través del cual se produce el intercambio de materiales por difusión y ultradifusión. Las vénulas tienen una luz relativamente grande y una pared muscular más delgada que las arterias y constituyen el sistema colector de baja presión para la sangre venosa (relativamente desoxigenada) a medida que sale de los capilares. Las vénulas se reúnen progresivamente para formar venas más grandes que finalmente se unen en las venas más grandes del organismo, las venas cava superior e inferior, estos dos grandes vasos de la pared delgada retoman sangre venosa directamente al corazón. Las venas contienen la mayor proporción de sangre dentro de la circulación (alrededor del 60%) y son mucho más distensibles que las arterias⁽¹⁶⁻¹⁷⁾.

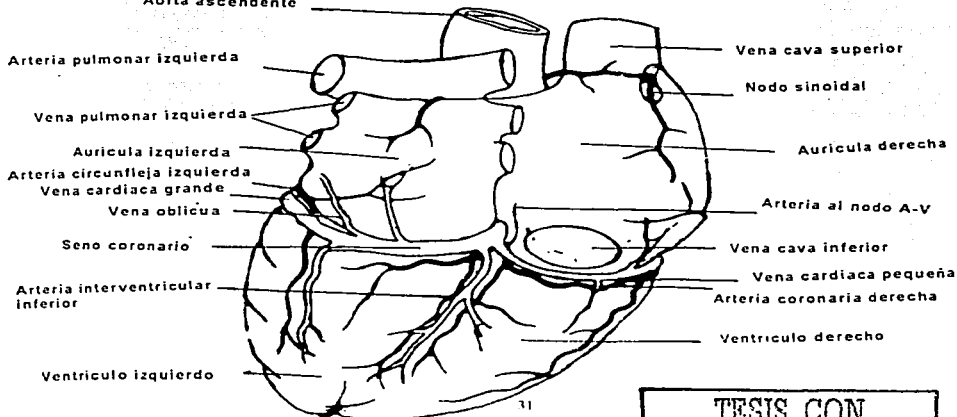
Las arterias coronarias izquierda y derecha (ver fig. 10a y 10b) son las primeras ramas que se originan en la aorta (la arteria más grande del corazón), y el flujo a través de estos vasos proporciona una rica irrigación de oxígeno y nutrientes al miocardio. La arteria coronaria izquierda se divide en dos ramas de igual importancia, la arteria interventricular anterior, de donde nace la arteria diagonal, y la arteria circunfleja que se ubica en el surco que existe entre la aurícula y el ventrículo izquierdo. La arteria coronaria derecha se ubica en el surco aurículo ventricular derecho y da nacimiento a la arteria interventricular y a la arteria del borde derecho. La obliteración de cualquiera de estas ramas es el origen del infarto de miocardio, la lesión de base consiste en un desarrollo anormal de la pared interna de las arterias coronarias, conocida como ateroma (o placas de grasa), éste predomina en los primeros centímetros de los troncos arteriales en la base de la aorta, a veces sin comprometer la porción distal, pero con compromiso de las ramas que atraviesan la pared de corazón (ramas intramurales). Los ateromas se forman donde las arterias se ramifican, la turbulencia en estas zonas lesiona la pared arterial, favoreciendo la formación de ateroma⁽²⁾.

Diagrama del corazón, representación de las principales arterias⁽⁸⁾.

10a) Cara anterior



10b) Cara posterior



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La lesión en cualquier arteria no es aislada y con frecuencia se producen estrechamientos múltiples que comprometen al menos dos e incluso tres de los troncos coronarios principales, las lesiones ateromatosas se localizan por regla general en las arterias coronarias, y respetan las arterias del organismo; cuando no es así, se generalizan a todo o parte del árbol arterial, comprometiendo particularmente la aorta abdominal, y la torácica, las arterias mesentéricas que irrigan los intestinos, las arterias de las extremidades inferiores y las arterias cerebrales (o carótidas), donde según su importancia y topografía pueden provocar arteritis de los miembros inferiores, accidentes vasculares cerebrales, infartos mesentéricos, etc.⁽⁴⁸⁾. Cuando alguna de las arterias coronarias se tapa, normalmente por el ateroma, da como resultado un complejo proceso denominado arterioesclerosis, este es un término que designa varias enfermedades en las que se produce engrosamiento y pérdida de elasticidad de la pared arterial, la más frecuente e importante de estas enfermedades es la aterosclerosis, en la que la materia grasa se acumula debajo del revestimiento interno de la pared arterial⁽⁴⁹⁾. El proceso de arterioesclerosis consiste en varias etapas⁽⁵⁰⁾ en donde están involucrados una serie de factores ambientales o físicos que desencadenan cantidades excesivas de partículas inestables conocidas como radicales libres de oxígeno, los cuales se unen y alteran otras moléculas en un proceso denominado oxidación. Cuando los radicales libres se liberan de las paredes arteriales, reaccionan con las lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidándolas, éstas depositan capas espesas de colesterol oxidado en las paredes internas de la arteria (conocida como endotelio), el colesterol se acumula y provoca lesiones en las arterias, durante este proceso el sistema inmunológico libera en ese punto glóbulos blancos (neutrófilos y macrófagos), esto inicia un proceso inflamatorio, los macrófagos se “comen” literalmente los cuerpos extraños (en este caso el colesterol oxidado) y se convierten en células espumosas, las que se adhieren a las células musculares de las paredes de las arterias, haciéndolas crecer; con el tiempo el colesterol se endurece y forma la placa, que se acumula en las paredes de las arterias, el sistema inmunológico al detectar estos daños, libera otros factores llamados citocinas, que atraen mas glóbulos blancos y perpetúan el ciclo completo, causando lesiones no persistentes en las arterias, como consecuencia las paredes de los vasos lesionados no producen suficiente óxido nítrico, una sustancia de vital importancia para mantener la elasticidad de las arterias, a la larga, estas arterias calcificadas(endurecidas) e inelásticas son mas

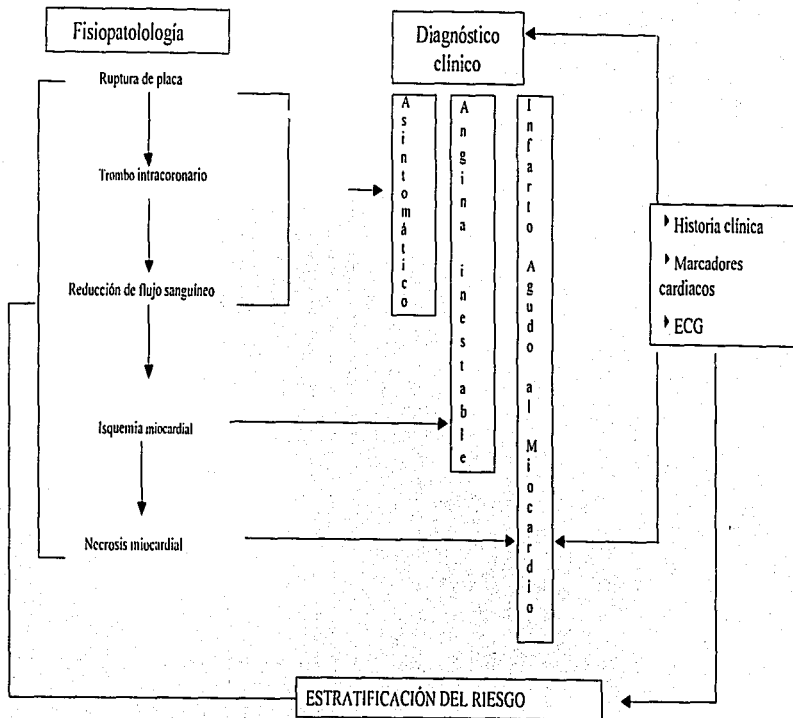
estrechas (un trastorno conocido como estenosis): a medida que continúa este proceso, el flujo sanguíneo disminuye y evita que la sangre rica en oxígeno llegue al corazón, esta privación de oxígeno en células vitales se denomina isquemia, el bloqueo completo de la arteria y la isquemia extensa provoca que los tejidos cardíacos no reciban oxígeno, por lo que las células de los mismos mueren; si la placa ateromatosa desarrolla fisuras o desgarros, las plaquetas se adhieren a ese punto para sellarla y se forma un coágulo sanguíneo (trombo). Entonces, puede producirse un infarto agudo al miocardio si el coágulo sanguíneo formado obstruye completamente el paso de la sangre rica en oxígeno hasta el corazón⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾.

Los infartos se clasifican usualmente por tamaño en: microscópicos (con necrosis focal), pequeños (<10% de necrosis en el ventrículo izquierdo), medios (10% al 30% de necrosis en el ventrículo izquierdo) o grandes (>30% de necrosis del ventrículo izquierdo). También pueden clasificarse por su localización en: anterior, lateral, inferior, posterior o septal, o combinaciones. Las áreas infartadas tienen básicamente tres zonas principales: a) la zona de necrosis que corresponde al centro del área del infarto, donde las células han muerto y no hay posibilidad de rescatarlas, b) alrededor de la primera zona, donde queda un área en la que las células han sufrido de falta severa de oxígeno y están comprometidas seriamente, pero aún son rescatables, es la zona de lesión, y c) una zona periférica y aledaña a la zona normal, que es la zona de isquemia, que sufre de falta de oxigenación pero de menor intensidad y que también es rescatable. La intención de los tratamientos del infarto agudo es justamente rescatar a las células que se encuentran en las zonas de peligro para limitar el daño definitivo que quedará en el corazón⁽⁵¹⁾.

El síndrome coronario agudo se define como un proceso fisiopatológico que abarca una serie de eventos que inician con la ruptura de la placa de ateroma lo que conduce a la formación del trombo intracoronario, de consecuencias variables para el miocardio, las manifestaciones clínicas se definen por la disminución del flujo sanguíneo, la isquemia y la necrosis. El electrocardiograma, la historia clínica del paciente y los marcadores de necrosis miocárdial, nos ayudan a distinguir estas situaciones clínicas. Actualmente se intenta evaluar clínicamente al paciente para determinar la categoría de riesgo a la que pertenece el paciente⁽⁵²⁾. En la figura 11 podemos apreciar en qué consiste el síndrome coronario agudo, su fisiopatología, el diagnóstico clínico y la evaluación clínica del mismo.

FIGURA 11. Síndromes coronarios agudos

14



La angina de pecho constituye la forma menos maligna del síndrome coronario agudo, existen tres tipos de angina: a) angina estable, b) angina de Prinzmetal y c) angina inestable. a) La angina estable se debe al aumento de las demandas de oxígeno por parte del músculo cardiaco, coincidiendo con una estenosis del árbol coronario debida generalmente a una placa fibrosa concéntrica, el aumento de las demandas metabólicas se produce por el esfuerzo, la emoción o ambas, esta forma de angina de pecho es menos grave que la angina inestable, b) la angina de Prinzmetal aparece en reposo, es cíclica, apareciendo a la misma hora del día y se debe al vasoespasmio de una arteria coronaria sana, o al aumento de tono vascular sobre una placa de ateroma, c) angina inestable, generalmente de reposo, se debe a una reducción súbita del flujo coronario causada generalmente por una placa de ateroma rota o ulcerada con la formación de un trombo de plaquetas, en la mayoría de los casos la angina inestable se considera el antecedente primario de los infartos, esta consiste en un dolor de pecho de tipo opresivo, en el centro del pecho y se corre al brazo izquierdo, el cuello o la parte alta del abdomen, este dolor suele acompañarse además de sensación de "falta de aire", náuseas, sudor frío, puede haber palpitaciones, y sensación de ansiedad, puede haber irradiaciones anómalas del dolor, como pueden ser los codos, las muñecas, muelas, o doler solamente la parte alta del abdomen, o tener sensación de indigestión, el dolor suele desaparecer al interrumpirse el esfuerzo que lo desencadenó si se trata de angina inestable, pero si la persona permanece en reposo y el dolor dura más de media hora debe ser considerado a priori como un probable infarto⁽⁵¹⁾.

El daño cardiaco en los síndromes coronarios agudos es dinámico y progresivo, la única diferencia entre el IAM y la angina inestable es la extensión del daño, ya que tarde o temprano una angina inestable no atendida, progresa a un infarto agudo al miocardio⁽⁵²⁾.

En un infarto agudo al miocardio la falta de oxígeno en las células cardíacas conduce al necrosamiento del músculo cardiaco, lo que hace que las membranas de las células se vuelvan permeables, y las macromoléculas intracelulares salgan del espacio intersticial y entren en la circulación periférica, vía local microvascular y drenaje linfático, entre las macromoléculas se encuentran proteínas o enzimas de interés clínico, conocidas como marcadores cardíacos, que se detectan en sangre periférica, son útiles para establecer el diagnóstico y pronóstico del daño miocárdico. Las condiciones ideales que deberían

cumplir los marcadores bioquímicos cardíacos en los pacientes con dolor torácico se resumen en la tabla 6⁽⁵⁴⁾.

Tabla 6 Condiciones ideales de los marcadores cardíacos

- ✓ Presentes en altas concentraciones en el miocito, y ausentes en otras células y componentes tisulares.
- ✓ Aparición rápida en sangre tras el inicio del daño miocárdico
- ✓ Relación directa entre extensión del daño miocárdico y nivel del marcador en sangre periférica.
- ✓ Tiempo de persistencia en sangre periférica suficiente para establecer un diagnóstico
- ✓ Técnica de determinación barata, rápida y fácil.

Un marcador cardíaco es una prueba de laboratorio clínico útil en la detección del IAM o daño miocárdico menor. Los marcadores cardíacos son más útiles cuando los pacientes no presentan trazos en el electrocardiograma que sean concluyentes para el diagnóstico.

Aunque todos son proteínas localizadas en el miocardio, difieren en su localización dentro del miocito, se liberan durante el daño y se depuran del suero, por lo tanto cada uno tiene un tiempo de vida media característico⁽⁵⁵⁾ (ver mas adelante).

En 1954, Karmen y sus colaboradores encontraron que la actividad de la enzima aspartato aminotransferasa se incrementa en el suero de pacientes con IAM, lo que estimuló el interés en la aplicación de biomarcadores en pacientes con síndromes coronarios agudos. En 1963 se descubrió que los niveles de la creatincinasa (CK) se incrementaban rápidamente tras daño miocárdico y en 1966 se demostró la superioridad en cardioespecificidad de la isoenzima CK-MB con respecto a las otras enzimas cardíacas, lo que condujo a la rápida adopción de este marcador como estándar de oro⁽⁵⁶⁾.

En México las enzimas cardíacas empleadas en el laboratorio de análisis clínicos, para el diagnóstico de IAM son la CK, y su isoenzima CK-MB, la aspartato amino

transferasa (AST), la lactato deshidrogenasa (LDH) y su isoenzima LHD₁. En países industrializados como Estados Unidos y en otros de Europa, se ha adoptado el uso de la mioglobina y troponinas dentro del panel de pruebas para diagnosticar el IAM, sustituyendo a la LDH, LDH₁ y AST, y aún cuando se ha confirmado que la CK-MB no es específico de necrosis de miocardio, continua siendo una buen marcador en combinación con troponina y mioglobina. Las características principales de estos marcadores son:

- **Creatinincinasa (CK).** Se localiza en músculo esquelético, cardiaco y tejido nervioso, cataliza la transferencia reversible de un fosfato de ATP a la molécula de creatina, consiste en dos monómeros, M y B, con un peso molecular de 43000, la subunidad M predomina en músculo esquelético, y la subunidad B predomina en cerebro. Cada subunidad dimérica de la CK es regulada por un gen distinto y se expresa en un tejido específico. El sistema de isoenzimas de la CK, consiste en: CK-BB, CK-MB, y CK-MM. CK-BB se localiza en tejido cerebral, gastrointestinal y tracto genitourinario. En humanos y animales CK-MB se encuentra predominantemente en el miocardio; representando del 5 al 30% de la actividad de la CK total en músculo cardiaco, otra porción del corazón se compone de CK-MM, en contraste con el músculo esquelético, el cual se compone de 99% o más de CK-MM, con trazas de CK-MB, lo que hace que ésta no sea específica del corazón. Por eso es que actualmente se intenta desplazar el uso de CK-MB como estándar de oro y sustituirlo por las troponinas^(5,57-58).
- **Aspartato amino transferasa (AST).** Los orígenes tisulares en orden de actividad descendiente son: corazón, hígado, músculo estriado, riñón y pancreas. Esta enzima es una transaminasa que cataliza la transferencia de un grupo amino (NH₂) de un ácido alfa-aminado a un ácido alfa-cetónico, formándose un nuevo ácido aminado y un nuevo cetoácido. Los valores séricos de AST aumentan cuando se libera la enzima de células dañadas del miocardio (músculo cardiaco). El grado de aumento es aproximadamente proporcional al daño⁽⁵⁵⁾.
- **Lactato deshidrogenasa (LDH).** Esta enzima se encuentra en todos los tejidos, en niveles muy altos comparados con los que se observan en suero los principales son, en orden de actividad descendiente: hígado, riñón, corazón, músculo estriado y sangre. Cataliza la reacción de ácido pirúvico a ácido láctico. Se conocen cinco tipos de isoenzimas de LDH; LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄ y LDH₅. En diagnóstico de IAM la

enzima de interés es LDH₁, conocida como **alfa-hidroxitubirato deshidrogenasa (HBD)** que tiene predominancia en corazón, pero se encuentra también en menor proporción en eritrocitos, riñón, cerebro, músculo estriado, pulmón, bazo e hígado. LDH₂ también aumenta en IAM, pero en menor proporción que LDH₁^(55,59).

- **Mioglobina.** Es una proteína que se halla principalmente en las células del músculo esquelético y músculo cardíaco, está unida de manera reversible al oxígeno y aumenta su transporte a las mitocondrias, desempeñando un papel importante en el metabolismo aerobio celular, durante un infarto agudo de miocardio, se libera y puede detectarse en sangre. En la actualidad, la mioglobina es el marcador biológico más precoz de la necrosis miocárdica⁽⁶⁰⁾. Su bajo peso molecular (17 800d) proporciona una difusión más rápida en la sangre circulante que enzimas como CK, LDH y troponinas.

En 1979 la Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció el siguiente criterio para el diagnóstico del IAM, si al menos se cumplen dos de las siguientes condiciones⁽⁶¹⁾:

- La presentación de dolor de pecho con duración de 20 min.,
- Cambios evolutivos en electrocardiograma,
- Niveles anormales de CK-MB.

Sin embargo, actualmente muchos médicos han adoptado las recomendaciones hechas por el comité de la Sociedad Europea de Cardiología (en Inglés European Society of Cardiology, ESC) y el Colegio Americano de Cardiología (en inglés American College of Cardiology, ACC), el cual sólo incluye que se presenten al menos dos condiciones: un marcador cardíaco elevado y otro indicador de IAM (ver abajo), descartando el criterio anteriormente establecido por la OMS⁽⁶²⁾.

Criterio actual para diagnosticar un infarto agudo al miocardio

**Elevación de
marcadores
Cardíacos:
Troponinas o
CK-MB y CK-total**

+

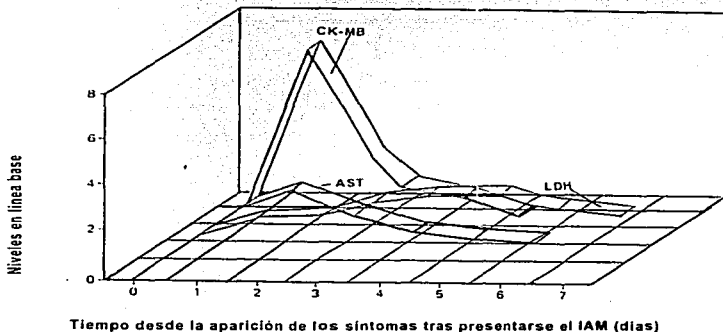
Uno de los siguientes

**Evidencia de daño
miocárdico evaluado
por examen patológico
ECG anormal o alguna
modalidad de imagen
anormal**

2.5 Ventana de diagnóstico para marcadores de necrosis miocardiaca

El perfil de actividad –tiempo de los marcadores en sangre periférica depende de su peso molecular, su localización dentro de la célula, sus características de liberación los índices de drenaje vascular o linfático, así como la depuración sistémica con que cuentan⁽⁶³⁾. Varios investigadores están, de acuerdo en que CK-MB aparece aproximadamente 4.6h después de presentarse los síntomas de IAM, y su actividad pico se observa en el intervalo de 15-24h de oclusión, en pacientes admitidos de 48 a 72h tras presentarse los síntomas de IAM, los niveles de CK-MB regresan a los niveles normales. LDH 1, tiene actividad pico entre 48 y 72h, permaneciendo elevada hasta por 10 días. La actividad pico de AST se encuentra aproximadamente a las 10h de presentarse IAM, y comienza a regresar a sus valores normales entre 48 y 72horas^(5,59) (fig. 12).

Fig. 12 Perfil de actividad enzimática para marcadores en el infarto agudo al miocardio.



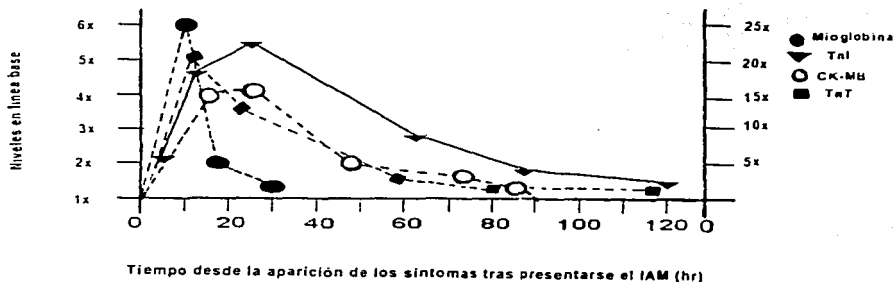
Alrededor de las tres primeras horas tras presentarse los síntomas de IAM, cTnT comienza a liberarse y aparece en circulación. Entre 12 y 24 horas después del IAM, cerca del 100% de los pacientes presentan valores elevados de TnT en sangre⁽⁶⁴⁾, y permanece elevada por varios días (tabla 7).

Tabla 7 Ventana de diagnóstico para marcadores séricos de necrosis miocárdica

Marcador	Tiempo inicial (rango), de aparición en circulación	Tiempo en que aparece la concentración pico	Ventana de diagnóstico
Mioglobina	1-4h	6-7h	24h
CK-MB	3-12h	24h	48-72h
cTnT	3-12h	12-48h	5-14días
cTnI	3-12h	24h	5-10días

cTnI y CK-MB aparecen aproximadamente en circulación 4.6 h después de presentarse los síntomas de IAM⁽⁶⁵⁻⁶⁶⁾. El pico de concentración para las troponinas se observa aproximadamente a las 24h, para cTnI y de 12 hasta 48h para cTnT (Fig. 13).

Fig. 13. Perfil de concentración-tiempo para marcadores de necrosis miocárdica



2.6 Utilidad clínica de las troponinas en el Infarto Agudo al Miocardio

En 1987 surgieron los primeros trabajos para demostrar que la isoforma cardiaca cTnI se libera en sangre después de un infarto agudo al miocardio, el modelo experimental fue en perros y se cuantificó cTnI por un método inmunoenzimático (ELISA), los métodos seleccionados y desarrollados en ese estudio con el uso de anticuerpos policlonales no fue el mejor, ya que existió ambigüedad en sus determinaciones, sin embargo se abrieron posibilidades en el diagnóstico del IAM⁽⁶⁷⁻⁶⁸⁾

La utilidad clínica de las troponinas no sólo se limita al diagnóstico de IAM, sino a la prevención de este, desde el momento en que aparece la angina inestable, ya que las lesiones desarrolladas en el miocardio, a partir de este momento son progresivas y dinámicas, y sólo un diagnóstico temprano puede permitir guiar la terapia para controlar el daño. Se ha confirmado histológicamente que una gran proporción de pacientes con diagnóstico de angina de pecho inestable, presentan valores de troponinas I o T positivos, y CK-MB negativos, y si no es atendida, tarde o temprano evoluciona a IAM, por lo tanto las troponinas son importantes en la evaluación del riesgo en pacientes con síndromes coronarios agudos a diferencia de CK-MB⁽⁶⁹⁻⁷⁰⁾.

Una vez que el paciente ha cursado con IAM, cTnI y cTnT también son útiles en la evaluación del riesgo a largo plazo, tras un infarto, a las 6 horas de formarse un foco de necrosis, comienza la cicatrización, este proceso continúa al menos hasta 3 meses después (90 días) desarrollándose en varias etapas. En una primera etapa, los glóbulos rojos y macrófagos invaden el área de necrosis, en una segunda etapa, se forman vasos de nueva constitución que revascularizan el área inflamatoria, luego ésta es invadida por una trama fibrosa de colágeno, mientras este proceso no llegue a su fin, es decir hasta los 90 días de su evolución, esta zona puede romperse en cualquier momento y provocar un nuevo infarto, por lo que la medida de los marcadores de cTnT o cTnI sirven para detectar un posible reinfarto, siempre y cuando este no ocurra antes de completar la depuración, ya que los marcadores liberados del segundo reinfarto, quizá sean indistinguibles de los liberados en el primer infarto⁽⁵⁴⁾.

Las troponinas tienen la capacidad de:

- ✓ Guiar la terapia en pacientes con IAM.
- ✓ Predecir el diagnóstico para pacientes con angina inestable, y de esta manera prevenir el desarrollo de necrosis y por lo tanto del IAM.
- ✓ Estratificar el riesgo en pacientes con síndrome coronario agudo.
- ✓ Cuantificar el daño, es decir el tamaño del área infartada.
- ✓ Prevenir futuros re-infartos
- ✓ Y conferir especificidad al diagnóstico.

Incluir troponinas en el panel de pruebas para diagnosticar IAM, evita terapias equivocadas y/o innecesarias, y previene de complicaciones que pueden conducir a la muerte del paciente.

El electrocardiograma y los marcadores séricos convencionales de daño miocárdico como la CK-MB, la AST y la LDH, no siempre son herramientas perfectas para hacer un diagnóstico⁽⁷¹⁾.

En 1993 Adams y colaboradores⁽⁷²⁾ demostraron la especificidad cardíaca de TnI para detectar el daño del miocardio en un Infarto Agudo al Miocardio, y fue consistente con los estudios de Cummins y colaboradores, ya que no encontraron reactividad cruzada entre las isoformas de músculo esquelético y cardíaco, ni elevaciones en pacientes con enfermedades de músculo esquelético o traumas, y tampoco en corredores profesionales.

Se ha demostrado que la cTnI es más específica que la CK-MB para el diagnóstico de IAM, esto se explica por diferencias en su desarrollo biológico, los genes B y M se expresan durante el desarrollo fetal en fase temprana por todos los tejidos musculares, incluyendo el músculo esquelético, la subunidad B es la forma predominante de las especies de la CK-total, producida por músculo esquelético⁽⁷³⁾. En la edad adulta hay una supresión en la expresión de la subunidad B en músculo esquelético, y sólo queda una pequeña cantidad de la CK-MB (1%), las enfermedades degenerativas de músculo esquelético como la distrofia muscular Duchenne (DMD), o el frecuente ejercitamiento de los músculos puede reactivar la expresión del gen B, previamente suprimido⁽⁷⁴⁾, e incrementar la síntesis de la CK-MB en músculo esquelético, resultando en incrementos de

la CK-MB sérica. Por ejemplo, valores de la CK-MB por arriba del 50% del total de la CK pueden ocurrir en pacientes con dermatomiositis⁽⁷⁵⁾, un incremento similar ocurre con las isoenzimas de la LDH y la TnT cardiaca, que son frecuentemente reexpresados después de daño muscular esquelético. En el caso de la cTnI se ha demostrado que no se expresa en cualquier fase del desarrollo o en respuesta a enfermedades de músculo esquelético⁽⁷²⁾.

En pacientes con falla renal se elevan los valores de la CK-MB, lo que confunde el diagnóstico de IAM, la cTnI ha demostrado ser específica para daño miocárdico en varias fases de falla renal porque no se eleva⁽⁷⁶⁾, también se ha confirmado recientemente que la segunda generación de anticuerpos desarrollados por la casa comercial de Boehringer Mannheim eliminan los falsos positivos de la cTnT en pacientes con falla renal, debido a que algunas isoformas de la cTnT se elevan en falla renal, los nuevos anticuerpos solo reaccionan con las isoformas provenientes del corazón, por lo tanto la cTnT y la cTnI permiten un diagnóstico de daño verdadero en miocardio en esa población susceptible a elevaciones no-específicas de las enzimas como la CK-MB⁽⁷⁷⁾.

También se ha encontrado que los pacientes con hipotiroidismo tienen doble riesgo de desarrollar hipertensión e hipercolesterolemia, por lo que están predispuestos a enfermedad arterial y subsecuentemente a IAM, en este caso se han observado incrementos de la CK y algunos casos de la CK-MB, por lo que se han realizado estudios con troponina I y se ha confirmado que este marcador es mejor para evaluar daño miocárdico, ya que no se incrementa en hipotiroidismo⁽⁷⁸⁾.

Las troponinas han sido cuantificadas por diversos métodos y han surgido una gran cantidad de estudios que describen los parámetros diagnósticos de las pruebas, estos estudios incluyen la comparación de cTnI y/o cTnT con CK-MB en el IAM, el uso de cTnI en la estratificación del riesgo dentro de los síndromes coronarios agudos, y la determinación de parámetros como sensibilidad y especificidad diagnóstica de las troponinas en función del tiempo. A continuación se mencionan algunos de los estudios hechos al respecto:

Thomas H. Lee y colaboradores⁽⁷⁹⁾ estudiaron a 1175 pacientes que se habían sometido a cirugía mayor no-cardíaca y determinaron el valor diagnóstico de la troponina T como marcador de isquemia miocárdica, de estos pacientes el 1.4% fue diagnosticado con IAM. En este estudio se empleó la CK-MB y electrocardiograma para definir el IAM y la

conclusión a la que llegan es que la troponina T tiene un valor diagnóstico similar al de la CK-MB, con una sensibilidad de 80%, y una especificidad de 90%, el valor predictivo positivo fue de 11% y el valor predictivo negativo fue de 99%, la cuantificación se realizó con el autoanalizador ES-300 de Boehringer Mannheim.

Michael R. Y colaboradores⁽⁶⁹⁾ estudiaron a 667 pacientes, el 5.1% diagnosticados con IAM, dentro de las 24 horas de arribar al hospital y emplearon CK-MB como estándar de oro, ellos concluyeron que un paciente con un valor de cTnT de 0.2µg/L o mayor, es 3.5 veces más susceptible de tener complicaciones cardíacas dentro de los 60 días de internamiento, que un paciente con un valor debajo de 0.2µg/L. La medida de cTnT puede identificar necrosis de miocardio en pacientes que se presentan al departamento de urgencias con posibles síndromes coronarios agudos, además evalúa el riesgo de complicaciones isquémicas durante o después de la hospitalización. La cTnT reportó una sensibilidad del 97% y una especificidad del 92%, para su cuantificación emplearon ES-300, en pacientes que a comparación del caso anterior no se habían sometido a cirugía, y disminuyeron los casos falsos positivos por reacción cruzada con la isoforma de músculo esquelético. La sensibilidad reportada es mayor, ya que las muestras fueron recolectadas entre las 12 y 24 horas, periodo en el que se encuentran elevada la troponina T en un 100% (ver más adelante).

Mario D'Costa y colaboradores⁽⁶⁵⁾ estudiaron 316 pacientes que ingresaron al departamento de urgencias con dolor de pecho, sus objetivos fueron demostrar que la TnI era más sensible que la CK-MB, y evaluar el perfil de concentración en función del tiempo durante 24h para la cTnI. De los pacientes estudiados, 62 fueron diagnosticados con IAM, los niveles de la cTnI fueron anormales en 49 pacientes con IAM comparado con 27 para la CK-MB, las muestras evaluadas fueron las que se recolectaron en el momento de la admisión. En sus resultados 62 pacientes que cursaban con IAM fueron correctamente diagnosticados en la admisión con la combinación de la mioglobina y la cTnI. Los parámetros de sensibilidad y especificidad para cTnI fueron 97% y 98% respectivamente, por lo tanto proponen de una manera interesante el uso de la mioglobina y de la cTnI, el primero como marcador temprano y el otro como tardío, este estudio se publicó en 1996 y cabe mencionar que en una guía de recomendaciones hechas por el comité de la Asociación

Nacional de Bioquímica Clínica (siglas en inglés NABC) en 1999 se hace una propuesta similar a ésta, la cual se discutirá mas adelante detalladamente⁽⁵⁴⁾.

Robert y colaboradores realizaron dos estudios, en el primero⁽⁸¹⁾ hacen una comparación entre la cTnI y lacTnT en la estratificación el riesgo en síndromes coronarios agudos y en el segundo comparan autoanalizadores para cuantificar la cTnI, en el primer estudio incluyeron 770 pacientes con síndromes coronarios agudos, ellos compararon la cTnT y la cTnI recolectadas 3.5h de presentarse los síntomas isquémicos, para predecir resultados clínicos, en 90.4% de los pacientes los resultados fueron concordantes, es decir ambos positivos o negativos, entre los resultados discordantes, 66 fueron positivos para la cTnT y negativos para la cTnI, 8 mostraron la situación contraria, es decir que 8 tuvieron la cTnI positiva y la cTnT negativos, 5 pacientes con la cTnT positiva y la cTnI negativa murieron en los 30 días subsecuentes; ninguno de los que tenían la cTnI positiva y la cTnT negativa murió. Por lo tanto la cTnT mostró una asociación alta con la mortalidad en 30 días subsecuentes en comparación con la cTnI, situación que se determinó midiendo el área bajo la curva para la cTnT y la cTnI, la cTnT se cuantificó con el autoanalizador ES-300 y la cTnI en el Stratus

En el segundo estudio⁽⁸²⁾ incluyeron 289 pacientes, 45 pacientes con IAM, a los cuales se les cuantificó la cTnI (empleando la CK-MB como estándar de oro), las muestras se recolectaron en un intervalo de 24 horas tras la llegada al hospital, el objetivo fue determinar si existía diferencia entre los autoanalizadores ACCESS y STRATUS, la sensibilidad y especificidad en cada uno de los equipos fue similar, no encontrando diferencia significativa estadística ente ambos.

Fred S. Apple y colaboradores⁽⁸³⁾ realizaron un estudio multicéntrico con 192 pacientes que experimentaban síntomas de IAM, conjuntamente con daño muscular esquelético o enfermedad renal, de los ellos 59 fueron diagnosticados con IAM (emplearon como marcadores: la cTnI, la CK-MB y la Mioglobina), la media entre el tiempo de admisión y la presentación del dolor de pecho fue de 7h, los cálculos engloban los resultados obtenidos por diferentes autoanalizadores. Para el caso de cTnI se emplearon los autoanalizadores Dade Stratus, Behring Opus y Beckman Acces, para la CK-MB; el CK-MB-Stratus y el CK-MB-Mass, y para la mioglobina el Stratus. Los resultados obtenidos se pueden ver en la tabla 10.

Tabla 8 Sensibilidad y especificidad clínica para los marcadores cTnI cardiaca, la CK-MB y la mioglobina. Los muestreos seriales se hicieron en 192pacientes tras presentarse a la unidad de emergencias por síntomas de IAM.

Sensibilidad	Sensibilidad%			
	0<6h	6<12h	12<24h	>24 a 72h
cTnI	65.0	71.9	93.2	97.2
95% IC	50.2-79.8	56.3-87.5	85.7-100	91.2-100
CK-MB	77.5	78.1	79.5	94.4
95% IC	64.6-90.4	63.5-92.4	67.6-91.5	87.0-100
Mioglobina	75.0	75.0	72.7	61.1
95% IC	61.6-88.4	60.0-90.0	59.6-85.9	45.2-77.0
Series	52.5	53.1	61.4	60.4
95% IC	37.0-68.0	35.8-70.4	47.0-75.8	50.4-70.5
Paralelas	87.5	90.6	97.7	98.9
95% IC	77.3-97.7	80.5-100	93.3-100	96.8-100

Especificidad	Especificidad%			
	0<6h	6<12h	12<24h	>24 a 72h
cTnI	100	97.0	94.4	95.6
95% IC	100-100	92.8-100	89.7-99.2	93.3-97.8
CK-MB	91.0	86.4	82.2	87.0
95% IC	85.1-97.0	88.1-96.6	74.3-90.1	83.3-90.7
Mioglobina	74.2	81.8	67.8	73.4
95% IC	65.1-83.3	72.5-91.1	58.1-77.4	68.5-78.3
Series ^a	100	98.5	97.8	98.6
95% IC	100-100	95.5-100	94.7-100	95.9-100
Paralelas ^b	67.4	72.7	58.9	64.8
95% IC	57.7-77.2	62.0-83.5	48.7-69.1	53.7-75.9

IC: intervalo de confianza

^aSeries: mioglobina + CK-MB + cTnI.

^bParalelas: mioglobina o CK-MB, o cTnI

En un segundo estudio Fred S Apple y colaboradores⁽⁴⁴⁾ evaluaron IAM, se hizo la recolección de muestras en 633 pacientes que se presentaron con dolor de pecho en 6 diferentes hospitales de E.U.A., de los cuales 122 presentaron IAM, el diagnóstico de IAM fue hecho de acuerdo a criterio de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cual incluye dolor de pecho, alteraciones en el ECG y elevaciones de la CK-MB, en algunos pacientes fue posible obtener más de una muestra en el mismo intervalo de tiempo, el objetivo principal del estudio fue comparar dos autoanalizadores y demostrar si existían diferencias significativas entre estos estimaron el tiempo entre el inicio del dolor de pecho y la admisión en el hospital, los valores de especificidad y sensibilidad se calcularon, primero desde el momento de llegar al hospital (tabla 11) y segundo desde el momento de

presentarse el dolor de pecho (tabla 12), y se concluyó que la sensibilidad y especificidad deben calcularse en base al tiempo transcurrido de llegar al hospital, debido a que a veces es imposible en ciertos pacientes determinar el inicio del dolor de pecho, porque los pacientes experimentan múltiples episodios de dolor en un intervalo de horas y hasta días, lo cual concuerda con otros estudios. En cuanto a los autoanalizadores empleados concluyen que no hay diferencias significativas entre ambos.

Tabla 9 Sensibilidad y especificidad clínicas de cTnI, después de presentarse al centro médico, determinaciones hechas en los autoanalizadores AxSYM y Stratus.

	Sensibilidad%			
	0<5h	5<12h	12<24h	>24
Autoanalizador AxSYM				
cTnI	64.6	92.2	89.3	93.3
95% IC	55.0-73.4	83.8-97.1	82.0-94.3	86.1-97.5
Autoanalizador Stratus				
cTnI	54.9	92.2	85.7	87.8
95%	45.9-64.2	83.8-97.1	77.8-91.6	79.2-93.1
		Especificidad %		
Autoanalizador AxSYM				
cTnI	94.6	93.8	94.0	94.4
95% IC	92.2-96.5	90.9-96.0	91.1-96.2	90.0-97.3
Autoanalizador Stratus				
cTnI	97.3	96.5	96.7	95.5
95% IC	95.3-98.69	94.1-98.1	94.4-98.3	91.4-98.1

Tabla 10 Sensibilidad y especificidad clínica de cTnI, desde el momento de presentarse el dolor de pecho, determinaciones hechas en los autoanalizadores AxSYM y Stratus.

	Sensibilidad%					
	0<5h	5<12h	12<24h	24<48	48<72h	>72h
Autoanalizador AxSYM						
cTnI	36.0	79.5	77.2	91.1	93.5	95.7
95% IC	18.0-57.7	63.5-90.7	66.4-85.9	83.1-96.0	82.1-98.6	85.2-99.5
Autoanalizador Stratus						
cTnI	24.0	74.4	72.2	87.6	93.5	87.0
95%	9.4-45.1	57.9-87.0	60.9-81.7	79.2-93.1	82.1-98.6	73.7-95.1
		Especificidad %				
Autoanalizador AxSYM						
cTnI	93.8	95.3	94.5	96.4	90.6	91.0
95% IC	88.1-97.3	90.9-97.9	91.4-96.7	99.3-98.4	82.9-95.6	84.8-95.3
Autoanalizador Stratus						
cTnI	99.2	97.6	97.5	97.3	97.9	93.2
95%	95.7-100.0	94.1-99.4	95.2-98.9	94.2-99.0	92.7-99.7	87.5-96.9

Actualmente está demostrado que la sensibilidad de la cTnI, la cTnT y la CK-MB, dentro de las primeras horas tras presentarse dolor de pecho, es muy baja para diagnosticar

IAM de forma segura, la explicación es que estos marcadores aparecen en circulación aproximadamente 4 horas después de que ha ocurrido el daño al miocardio.

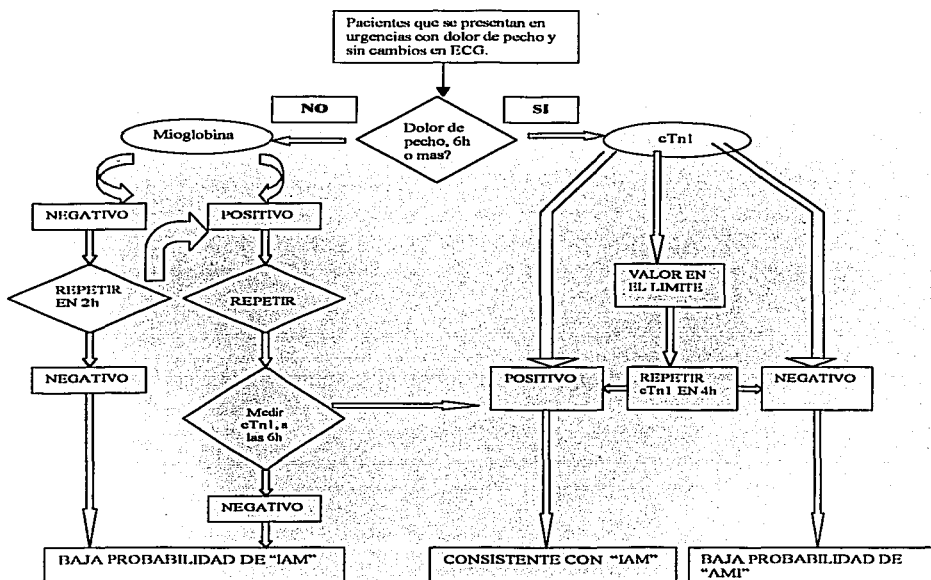
Se ha demostrado que la mioglobina, es el marcador biológico más precoz y aparece en sangre muy pronto, unas dos horas después del inicio de la necrosis cardíaca su permanencia en circulación es breve, además tiene el inconveniente de baja especificidad para el diagnóstico del IAM cuando existe daño en el músculo esquelético y también en casos de insuficiencia renal, de tal forma que el hallazgo de valores elevados en una sola determinación dentro de las 4-8h del inicio del dolor en pacientes con ECG sin anomalías, no debe ser considerado como prueba indiscutible de IAM y deben determinarse otros marcadores más específicos de necrosis miocárdica, sin embargo, dada su alta sensibilidad, la negatividad durante las primeras 4-8h desde el inicio de los síntomas descarta la necrosis miocárdica⁽⁵³⁾.

Más de una década ha transcurrido desde que se encontró utilidad a las troponinas como marcadores cardíacos, ahora tras innumerables estudios, se ha formado un comité, la Academia Nacional de Bioquímica Clínica (En inglés NABC, National Academy of Clinical Biochemistry) que en su sexta conferencia hizo una guía de recomendaciones para el uso de marcadores cardíacos en enfermedades coronarias, tomando en cuenta la opinión de aproximadamente 100 expertos en la materia. El comité recomienda el uso de dos marcadores para el diagnóstico de IAM⁽⁵⁴⁾:

- ✓ Uno que se eleve tempranamente. Dentro de las primeras 6 horas tras presentarse los síntomas de IAM (tabla 7), y
- ✓ Otro que se incremente en sangre de 6-9h, y que sirva como definitivo para el diagnóstico de IAM.

Tomando en cuenta las consideraciones anteriores Mario D' Costa y colaboradores⁽⁶³⁾, en la Clinical Chemistry, proponen un siguiente algoritmo para diagnosticar IAM (fig. 14), midiendo mioglobina en las primeras 6 horas de presentarse los síntomas de IAM, y después de 6 horas medir cTnI, cuya cardioespecificidad, sensibilidad y especificidad diagnósticas ha sido demostrada completamente, esta propuesta concuerda con la recomendación hecha por la NABC sobre el uso de dos marcadores cardíacos, uno tardío y otro que se eleve tempranamente.

FIGURA 14. Propuesta para el uso de mas de un marcador en la evaluación de Infarto Agudo al Miocardio



2.7 Métodos de determinación de troponinas séricas

Actualmente existen en el mercado varios métodos para la determinación de troponinas, entre los cuales se encuentran los métodos cualitativos que utilizan la inmunocromatografía aplicada a tiras reactivas, estas evaluaciones son conocidas como "Punto de cuidado" (en inglés Point of Care, POC) o "cerca del paciente (en inglés near patient ó bedside) las cuales fueron diseñadas para usarse en el departamento de urgencias o salas de cuidados intensivos por médicos y enfermeras los ensayos POC requieren de pequeñas cantidades de sangre entera, y no necesitan ser transportadas al laboratorio, lo que se traduce en ahorro de tiempo al evitar el procesamiento de las muestras y el reporte de resultados, por otro lado los resultados obtenidos por estas metodologías permiten tomar decisiones sobre el tratamiento adecuado para el paciente⁽⁸⁵⁾.

Tratándose de la cTnI hay que ser cautelosos en la elección de las tiras reactivas, ya que hay métodos que presentan inmunoreactividad variable frente a las diferentes formas de troponina que circulan en forma de complejos (ver mas adelante en la sección 2.8), lo que causa confusión en la interpretación de resultados cuando los médicos los comparan con los obtenidos por los métodos tradicionales, al respecto solo Dade Behring para la cTnI y Roche Boehringer Mannheim para la cTnT tienen tiras reactivas para evaluaciones POC (Stratus CS y Trop T, respectivamente) que pueden correlacionarse con los resultados obtenidos por los autoanalizadores Stratus II y RxL de Dade Behring, y Elecsys de Roche Mannheim, respectivamente⁽⁸⁶⁾.

En la tabla 11, se presenta un resumen de algunas tiras reactivas que se encuentran disponibles.

Tabla 11. Tiras reactivas empleadas para determinar cualitativamente las troponinas I y T cardiacas.

Tira Reactiva	Características del ensayo	Tiempo de análisis
Test cualitativo de Troponin T (Spectral diagnostics Europe) ⁽⁸⁾ Boehringer Mannheim ⁽⁹⁾	Es un análisis en tiras reactivas (dry-strep) que aplica como fundamento la técnica ELISA. En este ensayo los inmunocomplejos se forman con un anticuerpo monoclonal cardiospecífico y un anticuerpo monoclonal biotinilado unido a diferentes epitopes de la troponina T. Los inmunocomplejos son inmobilizados en estreptavidina. Aparece una banda color púrpura en la ventana de reacción, si el resultado es positivo.	20 min.
Trop T Test (Spectral diagnostics Europe) ⁽⁸⁾ Boehringer Mannheim ⁽⁹⁾	A diferencia del método anterior, los eritrocitos se separan del plasma, el cual difunde en la tira permitiendo su detección. Si las concentraciones de la cTnT son anormales, los anticuerpos inmobilizados se unen al marcador y aparece una banda de color púrpura	15 min.
Test cualitativo de Troponin T (Spectral diagnostics Europe) ⁽⁸⁾ Boehringer Mannheim ⁽⁹⁾	El ensayo se hace también por cromatografía inmunológica en fase sólida. Esta prueba requiere de anticuerpos monoclonales y anticuerpos policlonales biotinilados, los cuales forman un sandwich complejo con la molécula de cTnI que se adhiere a la estreptavidina en la zona de señal.	15 min.

Los métodos empleados por los autoanalizadores ELISA y los equipados con tecnología quimioluminiscente, un método no -radioactivo, utilizan anticuerpos policlonales y monoclonales. Los autoanalizadores que utilizan anticuerpos de primera generación (los primeros en el mercado) de la cTnT presentaban reacción cruzada con los isoformas de músculo esquelético, el desarrollo de nuevos anticuerpos llamados de segunda generación han arrojado los mejores resultados, porque eliminan esa reacción evitando falsos positivos⁽⁸⁾. Otra cuestión importante de los autoanalizadores de segunda generación, con respecto a los de primera generación es que se ha reducido el tiempo de análisis de 60 hasta 15 min. aproximadamente (tabla 12).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12 Principales métodos disponibles para determinar cuantitativamente las troponinas T y I cardíacas.

AUTOANALIZADOR CARACTERÍSTICAS DE LA TÉCNICA TIEMPO DE ANÁLISIS

Lector de microplacas .ES-System De Boehringer Mannheim ⁽⁸⁸⁾	El sustrato empleado es o-fenilendiamina/ H_2O_2 . Este método emplea anticuerpos monoclonales anti-cTnI que disminuyen la reactividad cruzada que exista con la TnT de músculo esquelético. La segunda generación de ELISA es específica para la isoforma cardíaca.	15 min.
ACCES de Boehringer Mannheim ⁽⁹⁾	El ACCES es un inmunoensayo de doble fase que usa anticuerpos monoclonales. Para su detección utiliza quimioluminiscencia. En este sistema el sustrato Hiorseradiash peroxidasa (POD-HRP), en presencia de H_2O_2 cataliza la oxidación de diacilhidracidas como el luminol, la señal generada (fotones) en la reacción enzimática, es una luz emitida (luminiscencia), que es detectada por el lector del autoanalizador. La señal se amplifica por 4-iodofenol (contenido en el sustrato reactivo, junto con el luminol).	15-20min.
ES-300 de Boehringer Mannheim ⁽⁹⁾	La TnT reacciona con un reactivo que contiene un anticuerpo biotinilado, el cual se une a la estreptavidina y la fase sólida, un segundo anticuerpo se une con peroxidasa, este anticuerpo conjugado con peroxidasa, se une a complejos de la cTnI inmovilizados. Posteriormente el sustrato POD se adiciona y el resultado es una señal medible. Utiliza anticuerpos de primera generación.	60min.
Delfia Plate fluorometre r de Wallace (Dade International aj) ⁽⁹⁾	Fluoroimmunoensayo de dos fases, para la cTnI. Los anticuerpos biotinilados son inmovilizados en la superficie de estreptavidina. La señal fluorescente se mide con el fluorómetro Delfia 1234	30min.
Delfia 1234 (de Wallace) ⁽³¹⁵⁾	Fluoroimmunoensayo, una fase. ELISA. En este ensayo los anticuerpos biotinilados se unen a anticuerpos previamente unidos a un quelato estable de Eu. La mezcla del antígeno y el anticuerpo unido al quelato se incuban.	6min.
Stratus II (Dade International aj) ^(88,89)	Fluoroimmunoensayo, doble fase, sandwich. Una muestra de la TnI es capturada por un anticuerpo fijado a la fase sólida del papel. Posteriormente se adiciona un anticuerpo anti-cTnI fluorescente, formándose un complejo inmovilizado. Después se adiciona un sustrato fluorescente y se mide la señal	10 min.
ANSYM de laboratorios Abbott ⁽⁹⁰⁾	La medida de la cTnI emplea un inmunoensayo enzimático de microparticulas, este es un ensayo de dos fases, que emplea un anticuerpo cTnI para capturar un anticuerpo cTnI policlonal y hacer la detección.	13min.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

2.8 Estandarización analítica y clínica de cTnI

Los resultados de especificidad y sensibilidad clínicas para la cTnI, y en general los valores reportados por las diferentes casas comerciales no pueden compararse entre sí debido a que cada ensayo tiene reactividad variable ante las diferentes formas en que circula la cTnI, es decir si está complejada o libre, fosforilada, ó si ha sido degradada por proteasas. De hecho las formas oxidadas y reducidas también ofrecen problemas de estabilidad para algunos ensayos, todo lo anterior representa un problema ya que las regiones de la molécula de cTnI susceptibles a cambios químicos exhiben inmunoreactividad variable, y frecuentemente pierden reactividad, lo que conduce a la disminución de la concentración antígeno-anticuerpo detectada. Actualmente los anticuerpos anti-cTnI se están desarrollando eligiendo las mejores zonas antigénicas de la molécula⁽⁸⁹⁾.

Como se mencionó anteriormente, Katruka y colaboradores demostraron que se lleva a cabo la degradación proteolítica de los residuos N y C terminales de la molécula de cTnI después del IAM, y que los inmuensayos diseñados con los anticuerpos anti-cTnI que se unen a la región de aminoácidos entre los residuos 33 y 110 de la cTnI generan una señal mayor, ya que la TnC unida a esta región, la protege de la degradación proteolítica, permitiendo preservar la inmunoreactividad, de esta forma la señal detectada en los inmuensayos es altamente dependiente de las regiones de epitopes reconocidos por los anticuerpos contra la cTnI⁽³¹⁾.

Para comparar las concentraciones de la cTnI de los diferentes ensayos comerciales debemos conocer contra cuales regiones de la molécula de la cTnI están dirigidos los anticuerpos del método en cuestión, el autoanalizador Dade Stratus II fue el primero aprobado por la Administración Federal de Medicamentos (siglas en inglés FDA) para la cuantificación de la proteína, por lo que, los autoanalizadores a prueba se comparan con el Stratus II⁽⁹⁰⁾. Se han hecho numerosos estudios de comparación de los autoanalizadores donde se reportan pendientes calculadas por regresión lineal para cada uno de los autoanalizadores y se ha observado una gran variabilidad explicada parcialmente por los hallazgos hechos por Katruka y cols⁽³¹⁾.

Existe la necesidad de estandarizar los ensayos para que puedan ser comparables, para tal propósito se ha formado la Asociación Americana de Química Clínica (siglas en

inglés AACC) cuya misión es desarrollar un consenso sobre el material de referencia para uniformar la medición de la cTnI. La estandarización de la cTnI entre los diferentes fabricantes podría no ser tan simple como determinar y optimizar un patrón de referencia ya que los resultados no solo deben enfocarse a la interpretación analítica, sino también a la clínica tomando en cuenta el tiempo transcurrido entre la presentación de los síntomas de IAM y/o llegada al hospital, y la toma de muestra, ya que los valores de concentración en sangre de las troponinas están en función del tiempo, como ya se mencionó^(54, 83-84).

Continuamente aparece información sobre el uso de la TnI como nuevo marcador para detectar IAM, y reemplazar a CK-MB, además hay suficientes evidencias de que la cTnI es una herramienta útil en la estratificación del riesgo en pacientes con angina inestable, sin embargo, hay que ser precavidos cuando se interpreten y comparen en la literatura diferentes estudios, atendiendo a las diferencias entre los distintos métodos empleados, aunque esto es comprensible para los que están familiarizados con el tema, el resto de los químicos clínicos y médicos duda reemplazar CK-MB por la cTnI, especialmente cuando se encuentran con diferentes valores de corte para IAM, así como diferencias entre los valores de referencia que trabaja cada método. Los expertos están a favor del uso de la cTnI en el diagnóstico de IAM sobre la CK-MB, pero sugieren seleccionar cuidadosamente el método de cuantificación, para lo cual existe amplia información en las principales publicaciones sobre métodos validados⁽⁸³⁻⁹⁰⁾.

Para la cTnT la situación es otra, varias generaciones de ensayos comerciales han sido validados analítica y clínicamente, además el marcador no cambia una vez que es liberada a la circulación, de inicio el principal problema se encontró en los ensayos de primera generación, en los que existe reactividad cruzada entre la isoforma cTnT y las isoformas de la TnT de músculo esquelético, la cual se eliminó con los ensayos de segunda generación. Otro problema de los ensayos con la cTnT es que presenta cuatro isoformas cardíacas y algunas se expresan en músculo esquelético en fases de desarrollo embrionario, posteriormente en la edad adulta los genes que se encuentran en músculo esquelético se suprimen, sin embargo en pacientes con enfermedad crónica renal se activan los genes y hay reexpresión de algunas isoformas cardíacas en músculo esquelético, lo que da lugar a falsos positivos de la cTnT en estos pacientes, pero la segunda generación de anticuerpos

anti-cTnT de Boehringer Mannheim⁽⁷⁷⁾ impide que las isoformas de la cTnT liberadas de músculo esquelético sean reconocidas, de tal forma que la señal detectada finalmente en la circulación corresponda a las isoformas de músculo cardíaco (si es que existen), eliminando falsos positivos de la cTnT en pacientes con falla renal crónica⁽⁷⁶⁻⁷⁷⁾.

3. DISCUSIÓN

La odisea de la utilidad de las troponinas y en general de los marcadores cardiacos en el IAM todavia no concluye⁽⁵⁸⁾, pero esta investigación ha permitido aclarar varios puntos.

El complejo de troponina consiste de tres unidades o cadenas polipeptídicas: la troponina I (cTnI) la cual previene la contracción muscular en ausencia de calcio, la troponina T (cTnT) la cual conecta el complejo de troponina a tropomiosina; y la troponina C (cTnC) la cual se une al calcio, junto con la tropomiosina y bajo la influencia de calcio. Las troponinas en conjunto regulan la contracción muscular, tanto en músculo esquelético como en músculo cardiaco, para ambos músculos las troponinas son codificadas por diferentes genes, por esta razón aún cuando guardan similitud en su función dentro de la contracción, presentan una secuencia de aminoácidos diferente⁽⁵⁸⁾.

La secuenciación de la cTnI de mamíferos ha revelado diferencias importantes entre la isoforma cardiaca y las isoformas de músculo esquelético rápido y lento, ya que son codificadas por diferentes genes, también se ha demostrado que la cTnI no se expresa en otro lugar que no sea corazón durante cualquier fase del desarrollo, ni como respuesta a estímulos, lo que no ocurre con la cTnT, por consiguiente la cardioespecificidad de la cTnI es absoluta y como marcador de necrosis miocardiaca permite distinguir el IAM de lesiones musculares (politraumatismo, rabdomiólisis), enfermedades musculares (distrofia muscular tipo Duchenne y dermatomiositis), hipotiroidismo, falla renal y cirugía no-cardiaca, en donde en algunos casos, el estándar de oro CK-MB se eleva⁽⁷²⁻⁷⁸⁾.

Recientemente las dudas sobre la especificidad analítica de la cTnT que presentaban los primeros métodos entre las isoformas cardiacas y las de músculo esquelético, así como la reexpresión de las isoformas cardiacas en músculo esquelético en algunas enfermedades, han sido resueltas de manera definitiva con los ensayos de segunda generación de Boehringer Mannheim que evitan los casos falso positivos. De manera que aunque la cTnT no muestra cardioespecificidad absoluta las investigaciones hechas actualmente ofrecen métodos que superan estos problemas y nos deja a la cTnT como una alternativa más para diagnosticar IAM⁽⁷⁷⁾.

Además de ser importante para IAM, la cTnI es superior en cardioespecificidad sobre la CK-MB que por años ha sido el estándar de oro, debido a que éste último no solo se encuentra corazón, sino en músculo esquelético además el gen para la CK-MB se

expresa durante las fases tempranas del desarrollo embrionario y existe reexpresión del mismo como consecuencia de las enfermedades citadas, y en este caso no se han proporcionado herramientas para superar estos problemas^(57,72-74).

Otro aspecto importante es que las troponinas cardíacas I y T se elevan en pacientes con angina inestable, la cual es el antecedente primario del IAM, lo cual nos habla de la importancia en el diagnóstico temprano, el cual nos permite estratificar al paciente como de bajo a alto riesgo dentro del espectro que abarca el síndrome coronario agudo^(52, 56, 64, 69, 70, 81).

Uno de los motivos por el cual los laboratorios se han negado a incluir la cTnI dentro de su panel de pruebas es que los valores obtenidos por diferentes métodos son muy diferentes, pero ahora los nuevos métodos inmunológicos permiten el reconocimiento diferencial de las formas de la cTnI en su forma libre ó compleja, en algunos ensayos las respuestas relativas frente a estas formas son practicamente equivalentes, mientras que en otros muestran diferencias sustanciales lo que puede llevar a cálculos por encima o por debajo de la concentración real cuando se encuentra en un entorno biológico complejo, por esta razón es aconsejable seleccionar los métodos nuevos, que permiten identificar de manera equivalente la cTnI, independientemente de la forma en que esté en la circulación, además de que éstos métodos cuentan con anticuerpos anti-cTnI que están dirigidos contra la zona más estable de la cTnI protegida por la degradación proteolítica (residuos 33-110) (31, 77, 86, 89, 90).

Cuando un paciente ingresa al servicio de urgencias dentro de las primeras horas de presentarse el IAM, el marcador de elección debe ser la mioglobina, ya que aún cuando no goza de buena especificidad, es el único que se libera tempranamente (1-4horas), pero por su baja cardioespecificidad debe ser acompañado de un marcador cardioespecifico como la cTnI^(54, 65, 83, 84, 87).

Los estudios que se presentan en esta investigación en cuanto a especificidad y sensibilidad de las troponinas, representan la mayoría de los artículos publicados en los últimos años, donde hay un consenso general sobre el reemplazo de las troponinas por la CK-MB como marcadores de diagnóstico o exclusión de IAM. Los perfiles de concentración de las troponinas y la CK-MB son similares, pero aparecen en circulación después de tres horas de presentarse el infarto agudo al miocardio, si solo utilizamos estos

marcadores dentro de las primeras horas podemos diagnosticar mal a un paciente. Pasadas 6 horas de un IAM podemos contar con las troponinas y la CK-MB porque su concentración en sangre es mayor, y los valores de especificidad y sensibilidad clínica aumentan, sin embargo la elección de la cTnI es la mas indicada dada su superioridad en cardiespecificidad sobre todos los marcadores incluyendo la cTnT y pudiendo reemplazar incluso al estándar de oro la CK-MB^(52, 54, 56, 57, 62, 83, 84).

En México, aunado al desconocimiento de la prueba y a la confusión provocada por la diferencia entre los valores reportados por las principales publicaciones, ahora ya expuestos y discutidos, se suma el factor económico ya que introducir a las troponinas dentro del perfil cardiaco significa un costo alto, por los autoanalizadores y reactivos empleados para determinar troponinas, una buena alternativa la tenemos con algunas tiras reactivas cuyos resultados son comparables a los obtenidos por los autoanalizadores⁽⁸⁶⁾. En Europa y Estados Unidos evalúan el impacto económico que cuesta internar un paciente por sospecha de IAM, sin tenerlo, o el caso contrario darlo de alta con un IAM no diagnosticado, así como el gasto que representa un tratamiento equivocado, y concluyen que las situaciones anteriores representan un costo mas alto que el generado por introducir las troponinas dentro del panel de pruebas para diagnosticar un IAM⁽⁶⁴⁾. Aún cuando en México no se pierden millones de pesos por demandas legales de casos de IAM mal diagnosticados, no significa que no existan pacientes que hallan sido mal diagnosticados, por lo que esta situación también debe ser vista desde el punto de vista ético.

4. CONCLUSIONES

Las troponinas cardíacas son útiles en el diagnóstico y exclusión del IAM, además son superiores en muchos aspectos al estándar de oro CK-MB y representan una alternativa más para los servicios de urgencias y unidades de cuidados coronarios, lo único que hace falta es más disponibilidad de métodos para incluirla dentro del panel de pruebas de laboratorio, y que tanto químicos clínicos como médicos se familiaricen y acepten las troponinas como nuevos marcadores de necrosis miocardiaca.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Estadísticas del Sector Salud y Seguridad Social. Cuaderno núm. 18. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática 2001. México, D.F.
2. HATT, P., Y PERENNEO, C.J. El Infarto de Miocardio. *Mundo Científico* 1980; 2 (1): 172-179.
3. HAMM, W.C., GOLDMANN, U.B., HEESCHEN, C., KREYMANN, G., BERGER, J. Y MEINERTZ, T. Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin T or troponin I. *New Eng J Med* 1997; 337 (23): 1648-53.
4. McEWAN, R.J. Myocardial infarction: early diagnosis. *Bri J Hos Med* 1997; 58 (1): 28-32.
5. STORROW, B.A., Y GIBLER, B.W. The role of markers in the emergency department. *Clin Chim Acta* 1997; 284: 187-196.
6. GUYTON, C.A. *Fisiología Humana*. Interamericana McGraw-Hill. Sexta edición. México, D.F., 1987.
7. GUYTON C.A., *Tratado de Fisiología Médica*. Interramericana McGraw Hill. Novena edición, México, D.F., 1997.
8. SCHALANT, C.R., Y ALEXANDER, WAYNE. *The heart: arteries and veins*. Mc Graw Hill. Octava edición. Estados Unidos de América, 1994.
9. LORENA, M., POOLE, K.J., ROSENBAWM, G., Y HOLMES, C.K. A model atomic of the unregulated thin filament obtained by x-ray fiber diffraction on oriented actin-tropomyosin gels. *J Mol Biol* 1995; 246: 108-119.
10. MALINCHICK, S., XU S., Y YU, C.L. Temperature-induced structural changes in the myosin thick of skinned rabbit psoas muscle. *Biophys J* 1997; 73: 2304-2312.
11. CUMMINS, P. Y PERRY. S.V. Chemical and immunochemical characteristics of tropomyosins from striated and smooth muscle. *Biochem J* 1974; 141: 43-49.

12. POTTER, D.J. Y GERGELY, J. Troponin, tropomyosine, and Actin Interactions in the Ca regulation of muscle Contraction. *Biochem* 1974; 13 (13).
13. LEAVIS, P., GERGELY J. Thin filament proteins and thin filament-linked regulation of vertebrate muscle contraction. *CRC Crit Rev Biochem* 1984; 16: 235-305..
14. EBASHI, S. Third component partipating in the superprecipitation of actomyosin. *Nature* 1963, 200, 1010.
15. EBASHI, S. Y EBASHI F. *J Biochem* 1964; 55: 604.
16. HARTSHORE J.D., Y MUELLER H. *Biochem Biophys Res* 1968.
17. SCHAUB C.M. Y PERRY V.S. The relaxing protein system of striated muscle. Resolution of the troponin complex into inhibitory and calcium ino-sensitizing and their relationship to tropomyosin. *Biochem J* 1969; 115 (5): 993-1004.
18. DRABIDOWSKI, W. DRABOWSKI, R., Y BARYLKO, B. *Fed Sur Biochem Soc.* (letter), 1696; 12:148.
19. GREASER, L.M., Y GERGELY, J. Purification and properties of the components from troponin. *J Biol Chem* 1973; 248 (6): 2125-2133.
20. CUMMINS, B. Y CUMMINS, P. Cardiac-Specific troponin I radioimmunoassay in the diagnostic of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1987; 113; 16.
21. CUMMINS, P. Y PERRY, S.V., Troponin I from human skeletal and cardiac muscles. *Biochem. J* 1978; 171: 251-9.
22. WILKINSON, J.M. Y GRAND, R.J.A. Comparison of amino acid sequence of troponin I from different striated muscle. *Nature* 1978; 278: 31-5.
23. LAURE, C., CALZOLARI, C., BERTICHANT, JP., LECLERQ, F., GROLLEAU, R., Y PAU, B. Cardiac specific immunoenzimometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1993; 39 (6): 972-9.
24. LESZYIK, L. DUMASWALA, R., POTTER, R. Y COLLINS, J.H.. Aminoacid sequence of boune cardiac troponin I. *Biochem* 1988; 27: 2821-7.
25. FERRIERES, G., CALZOLARI, C., MANI, C.J., LAUNE, D., TRINGUIER, S. LAPRADE, M. LARUE, C., PAU, B. Y GRANIER, C. Human cardiac troponin I: precise identification of antigenic epitopes and prediction of secondary structure. *Clin Chem* 1998; 44 (3): 487-493.

26. TOWNSEND, P.J., BARTEN, P.J.R., Y COUB, H.H., FARGA, H. Molecular cloning of human cardiac troponin isoforms: expression in developing and failing hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 2223-36.
27. LIAO, R., WANG, C.K., CHEUNG H.C., Coupling of calcium, to the calcium to the interaction of troponin I with troponin C from cardiac muscle. *Biochem* 1994; 33: 12729-34.
28. GIULLIANI, I., BERTINCHANT, P.J., GRANIER, C., LAPRADE, M., CHOCRON, S., TOUBIN, G., ETIEVENT, P.J., LARUE Y TRIQUIER, S. Determination of cardiac troponin I forms in the blood of patients with acute myocardial infarction and patients receiving crystalloid of cold blood cardioplegia . *Clin Chem* 1999. 45:213-222.
29. PERRY, V.S. Y COLE, A.H.. Phosphorylation of troponin and the effects of interactions between the components of the complex.. *Biochem* 1974; 141: 733-743.
30. HODGES, S.R., Y CHONG, S.C.P. Proximity of sulfhydryl groups to the sites of interaction between components of the troponin complex from rabbit skeletal muscle. *J Biol Chem* 1982; 257: 2549-55.
31. KATRUKHA, G.A., BEREZNIKOVA, V.A., FILATOV, L.V., ESAKOVA, V.T., KOLOSOVA, V.O., PETTERSON, K., Y COLS. Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection . *Clin Chem* 1993; 44 (2): 2433-2440.
32. HEELEY, D.H., GOLOSINKA, K. Y SMILLIE, L.B.. The effects of troponin T fragments T1 and T2 on the binding of nonpolymerizable tropomyosine to F-actine in the presence and absence of troponin I and troponin C. *J Biol Chem* 1987; 262: 9971-78.
33. HERZBERG, O., MOULT, J. Y MICHAEL, N.G. A model for the Ca -induced conformational transition of troponin C. *J Biol Chem.* 1986; 261 (6), 2638-2644.
34. GORDON, A.M., HOMSHER, E., Y REGNIER M. Regulation of contraction in striated muscle. *Physiological reviews* 2000; 80 (2): 853-924.
35. SIA S.K., SPIRACOPOULOS L., GAGNE S.M., LIU W. PUTKEY J.A., AND SYKES B.D.. Structure of cardiac muscle troponin C unexpectedly reveals a closed regulatory domain. *J Biol Chem* 1997; 272: 18216-18221.
36. DAVIS, B., LIU, W., Y PUTKEY J.A. Effect of troponin I associated on the calcium-bound conformation of cardiac troponin C (abstract). *Biophys J* 1998; 74(A): 143.

37. DONG, W. WANG, CK, GORDON, M.A., ROSENFELD S.S., A kinetic model for the binding of Ca to the regulatory site of troponin for cardiac muscle. *J Biol Chem* 1997; 272 (31): 19229-19235.
38. DONG, W. ROSENFELD, S.S. WONG C.K. GORDON, A.M., Y CHEUNG H.C. Kinetics studies of calcium binding to the regulatory site of troponin C form cardiac muscle. *J Biol Chem* 1998; 271: 688-694.
39. SYSKA, H. WILKINSON, J.M., GRAND, R.J. Y PERRY S.V. The relationship between biological activity and primary structure of troponin I from white skeletal muscle of the rabbit. *Biochem J* 1976; 153: 375-387.
40. RAMOS, I.H.C. Mapping subdomains in the C-terminal region of F-actina, thin filaments and decorated thin filaments. *J Mol Biol* 1970; 50: 279-295.
41. MOORE, P.B., HUXLEY, H.E., Y DEROSIER, J.D. Three-dimensional reconstruction of F-actin, thin filaments and decorated thin filaments. *J Mol Biol* 1970; 50: 279-295.
42. SQUIRE, J.M. Y E.P. MORRIS. A new look at thin filament regulation in vertebrate skeletal muscle. (Abstract). *FASEB J* 1998; 12: 761-771.
43. HITCHCOCK, S.E., HUXLEY, H.E. Y SZENT, G.A. Calcium sensitive binding of troponin to actine-tropomyosin: a two-site model for troponin actin. *J Mol Biol* 1973; 80: 825-836.
44. GUYTON C.A. Fisiología y fisiopatología. INTERAMERICANA McGraw-Hill. Tercera edición. México, D.F., 1994.
45. TRESGUERES J.A.F. Fisiología Humana. Interamericana McGraw Hill. Primera edición. México, D.F., 1992.
46. GUADALAJARA J.F. Cardiología. Mendez Cervantes. Cuarta edición. México, D.F., 1991.
47. THEWS G. Fisiología Humana. Interamericana Mc Graw Hill. Primera edición. México D.F., 1993.
48. L. K.J. Endotelium and acute coronary syndromes. *Clin Chem* 1998; 44 (8B): 1799-1808.
49. JIALAL, I. Evolving lipoprotein risk factors: lipoprotein and oxidized low-density lipoprotein. *Clin Chem* 1998. 44: (8B): 1827-1832.
50. JACOBSEN, W.D. Homocystein and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem* 1998; 44 (8B): 1833-1843.

- 51 The Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial Infarction Redefined- A Consensus Document of Comitte for the Redefinition of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36 (3): 959-972.
- 52 JESSE, L.R. Impact of the measurement of troponin on the triage, prognosis, and treatment of patients with chest pain . *Clin Chim Acta* 1999; 284: 213-221.
- 53 SHORIS, J.P. Y CANNON P.C. Evidence-based cardiology. Lippincott William and Wilkins. Estados Unidos, 2000.
- 54 WU, H.B. APPLE, S.F., GIBLER, B.W., JESSE, L.R., WARSHAW, M.M., Y VALDES, R. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery disease. *Clin. Chem* 1999; 45(7): 1104-1121.
- 55 BURTIS, CA, ASHWOOD E.R. Fundamentals of Clinical Chemistry. Saunders Company. Estados Unidos de América, 2001.
- 56 ADAMS, E.J. Clinical applications of markers of cardiac injury: basic concepts and new considerations. *Clin Chim Acta* 1999; 284: 127-134.
- 57 APPLE, S.F. Tissue specificity of cardiac troponin I , cardiac troponin T and creatine kinasa-MB. *Clin Chim Acta* 1999; 284: 151-159.
- 58 JAFFE, S.A. 2001-A biomarker odyssey. *Clin Chim Acta* 1999; 284: 197-211.
- 59 ANDERSON, S.C., COCKAYNE, S. Química Clínica. Interamericana Mc Graw Hill. Méx., D.F., 1995.
- 60 VAIDYO, H.C. Myoglobine: an early biochemical marker for the diagnosis of acute myocardial infarction (review). *J Clin Immunoassay* 1994; 17: 35-9.
- 61 WHO. *Circulation* 1979; 59: 607-9.
- 62 SAINATO, D. Troponin: the next gold standard for MI Diagnosis?. *Lab Med Int* 2001; 18 (2): 34.
- 63 DONNELLY, R, Y MILLAR-CRAIG, WM. Cardiac troponins: IT upgrade for the heart. *The lancet* 1998; 351: 21.
- 64 ALONSOZANA, L.G. Y CHRISTENSON H.R. The case for cardiac troponin T: marker for effective risk stratification of patients with acute cardiac ischemia. *Clin Chem* 1996; 42 (5): 803-808.

- 65 D' COSTA, M., FLEMING, E., Y PATTERSON C.M. Cardiac troponin I for the diagnosis of acute myocardial infarction in the emergency department. *Clin Chem* 1997; 108: 5.
- 66 WINTER, JR, WKOSTER, R, SCHOTVENLD, H.J., STURK, A., STRAALEN, VAN P., Y SANDERS T.G. Pronostic value of troponin T, myoglobin and CK-MB mass in patients presenting with chest pain without acute myocardial infarction. *Heart* 1996; 75, 235-9.
- 67 CUMMINS, B. Y CUMMINS, P. Cardiac specific troponin I released in canine experimental infarction: development of a sensitive enzyme-linked. *J Moll Cell Cardiol* 1987; 19: 999-1010.
- 68 CUMMINS, B., AUCKLAND, L.C. Y CUMMINS, P. Cardiac-specific troponin -I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1987; 113: 6.
- 69 APPLE, SF. FALAHATI, A., PAULSEN, R.P., MYLLER, A.E., Y SHARKEY, W.S. Improved detection of minor ischemic myocardial injury with measurement of serum cardiac troponin I. *Clin Chem* 1997; 43 (11): 2047-2051.
- 70 DEL REY, J.M., MADRID, H.A., VALIÑO, J.M., RUBÍ, J., MERCADER, J., MORO, C. Y COLS. Cardiac troponin I and minor cardiac damage: biochemical markers in a clinical model of myocardial lesions. *Clin Chem* 1998; 44 (11): 2270-6.
- 71 COLLINSON, P.O., ANSON, C.R., Y JOSEPH S. Cardiac troponins. (letter). *The Lancet* 1998; 351: 16.
- 72 ADAMS, E. J., BODOR, S.G., DAVILA-ROMAN, G.V., DELNEZ, A.J., APPLE, S.F., LADENSON H.J., Y COLS.. Cardiac troponin I: a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993; 88:101-106.
- 73 TRASK, V.R., STRAUS, W.A., BILLADELLO, J.J. Developmental regulation and tissue expression of the human muscle creatine kinase gene. *J Biol Chem* 1988; 263: 17142-9.
- 74 BODOR, S.G., PORTERFIELD, D., VOSS, M.E., SMITH, S. Y APPLE S.F. Cardiac troponin I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem* 1995; 41: 1710-5.

- 75 LAREA, J.L., COPPOLA, T.J., HANING, S. Creatine Kinase MB isoenzyme in dermatomyositis in dermatomyositis: a non cardiac source. *Ann Intern Med* 1981; 94: 341-343.
- 76 MARTIN GS, BEKER BN, SCHULMAN G. Cardiac troponin-I acutely predicts myocardial injury in renal failure. *Nephrology, Dialysis Trasplantation* 1998; 13 (7): 1709-12.
- 77 RICCHIUTE, V., VOSS, M.E., NEY, A., ODLAND, M., ANDERSON, A.W., Y APPLE, S.F. Cardiac troponin T isoforms expressed in renal diseased skeletal muscle will not cause false-positive results by the second generation cardiac troponin T assay by Boehringer Mannheim. *Clin Chem* 1998; 44: 1919-1924.
- 78 COHEN, F.L., MOBABEER, J.A., KEFFER, H.J., y JIALAL, I. Troponin I in hipothyroidism. *Clin Chem* 1996; 42 (9): 1494-6.
- 79 LEE, H.T., THOMAS, J.E., LUDWING, E.L., SAXKS, B.D., JOHNSON, A.P., DONALDSON, C.M., COOK, F., PEDAN, A. Y COLS. Troponin T as a marker for myocardial ischemia in patients undergoing mayor non cardiac surgery. *Am J Cardiol* 1996; 77: 1031-1036.
- 80 SAYRE, R.M., KAUFMANN, H.K., CHE, W.I. SPERLING, M., SIDMAN, D.R., DIEKCS, B.D., LIU, T., GIBLER, B.W. Measurement of cardiac troponin T is an effective method for predicting complications among emergency department patients with chest pain. *Ann Emerg. Med* 1998; 31: 539-549.
- 81 CHRISTENSON, H.R., DUH, H.S., NEWBY, K.L., OHMAN, M.E., CALIFF, M.R., GRANGER, B.C., PECK, S., Y COLS. Cardiac troponin T and cardiac troponin I. Relative value in short-term risk stratification of patients with acute coronary syndromes. *Clin Chem* 1998; 44 (3): 494-501.
- 82 CHRISTENSON, H.R., APPLE, S.F., MORGAN, L.D. ALOSOAZANA, L.G. MASCOTTI, K., OLSON, M., McCORMACK, T.R., WIANS, H.F., KEFFER, H.J. AND DUH, H.S. Cardiac troponin I measurement with the ACCES immunoassay system. Analytical and clinical performance-characteristics. *Clin Chem* 1998; 44 (1): 52-65.
- 83 APPLE, S.F., CHRISTENSON, H.R., VALDES, R., ANDRIAZKJA, B., DUH, H.S. FENG, J.Y., JORTANI, A.S. Y COLS. Simultaneous rapid measurement of whole

- blood myoglobin, creatine kinase MB, and cardiac troponin I by the triage cardiac panel for detection of myocardial infarction. *Clin Chem* 1999; 45 (2): 199-205.
- 84 APPLE, S.F., MATUREN, J.A., MULLINS, E.R., PAINTER, C., PESSIN-MINSLEY, S.M., WEBSTER, A.R., FLORES, S.J., Y COLS. Multicenter clinical and analytical evaluation of the AxSYM troponin -I immunoassay to assist in the diagnosis of myocardial infarction. *Clin Chem* 1999; 45 (2): 206-12.
- 85 HUDSON, P.M., CHRISTENSON, H.R., NEWBY, K.L., KAPLAN L.A., Y OHMAN, M.E. Cardiac markers: point of care testing. *Clin Chim Acta* 1999; 284: 223-237.
- 86 APPLE, S.F. Clinical and analytical standardization issues confronting cardiac troponin I. *Clin Chem* 1999; 45: 18-20.
- 87 LÜSCHER, S.M., RAUKILDE, J., Y THYGESEN, K.. Clinical Application of two novel rapid bedside test for the detection of cardiac troponin T and creatine kinase MB Mass/Myoglobine in whole blood in Acute Myocardial infarction. *Cardiology* 1998; 89: 228-228.
- 88 SYLVÉN, C., LINDAHL S., HELLKVIST, K., NYQUIST O., Y RASMANIS, G. Acute Excellent reliability of nure-based bedside diagnosis of acute myocardial infarction by rapid dry-strip creatine kinase MB, myoglobine and troponin T Acute ischemic heart disease. *Am Heart J* 1998; 135: 4.
- 89 TATE, R.J. HEATHCTE, RAYFIELD J. Y HICKMAN E.P. The lack of standardization of cardiac troponin I assay systems. *Clin. Chim. Acta* 1999; 284: 141-149.
- 90 KATRUKHA, G.A., BEREZNIKOVA, V.A., ESAKOVA, V.T., PETTERSON, K., LÖVGREN, T. SEVERINA, E.M. Y COLS. Troponin I released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. *Clin. Chem* 1998; 43 (8): 1379-1385.
- 91 WU, H.B.A., FENG, Y.I., MOORE, R., APPLE, S.F., McPHERSON H.P., BUECHLER, F.K. Y COLS. Characterization of cardiac troponin subunit release into srum after acute myocardial infarction and comparison of assay for troponin T and I. *Clin Chem* 1998; 44 (6): 1198-1208.