

Diagnóstico bioquímico de la isquemia coronaria aguda

Amparo Galán Ortega

Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Durante años el perfil enzimático (creatincinasa, actividad de la isoenzima CKMB, aspartato aminotransferasa y lactatodeshidrogenasa) ha sido el método bioquímico de elección para el diagnóstico de la isquemia coronaria aguda. De hecho, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), para establecer el diagnóstico del infarto agudo de miocardio (IAM) deben cumplirse dos de los siguientes tres criterios: dolor precordial de más de 30 min de evolución; cambios electrocardiográficos específicos, y elevación de la actividad catalítica de la creatincinasa (CK) y su isoenzima MB (CKMB)¹.

En la década de los noventa han surgido marcadores cardíacos más sensibles y específicos para detectar esta enfermedad, entre los que cabe citar: mioglobina sérica, isofomas de la isoenzima MB de la creatincinasa, concentración proteica de la isoenzima MB de la creatincinasa (CKMB masa), las troponinas cardíacas I y T y la proteína C, entre otros. Cada uno de estos marcadores presenta ventajas e inconvenientes sobre los otros y actualmente hay discrepancia sobre cuál es el marcador ideal. La elección correcta del marcador en consonancia con las horas de evolución del proceso isquémico es, hoy día, un tema muy debatido y que las Sociedades científicas intentan protocolizar²⁻⁴.

El objetivo de este artículo es estudiar los marcadores bioquímicos cardíacos y establecer una estrategia diagnóstica para su óptima utilización en el diagnóstico, evolución y pronóstico de la isquemia coronaria aguda.

Bioquímica de la isquemia coronaria

El miocardio necesita disponer de gran cantidad de energía, en forma de adenosín trifosfato (ATP), para desarrollar su metabolismo normal. La glucosa, principal fuente que utiliza para sus requerimientos energéticos, es metabolizada por la glucólisis aeróbica y por el ciclo del ácido tricarboxílico, y todas las enzimas que catalizan estas reacciones están en el miocardio. También obtiene energía a partir del metabolismo de aminoácidos, por reacciones de transaminación, y al igual que en el músculo esquelético la creatincinasa desempeña un importante papel en la producción de energía en forma de ATP. Pero a diferencia del músculo esquelético,

el miocardio no puede ejercer su metabolismo normal en ausencia de oxígeno. Por este motivo, cuando el corazón está sujeto a una oclusión aguda de una arteria coronaria, bien por la rotura de una placa ateromatosa, por un trombo sobreañadido o por otra circunstancia, se producirá una isquemia en el miocardio que ocasionará un déficit energético y una disminución del control metabólico. Si la isquemia es de corta duración, provocará unos daños en el miocardio reversibles, y el paciente sufrirá una angina. Si la isquemia se prolonga, esta falta de oxígeno producirá daños irreversibles ocasionando muerte celular y, por tanto, necrosis del tejido. El paciente sufrirá un IAM. Al producirse rotura celular saldrán a la circulación los constituyentes de las células miocárdicas dañadas⁵ (fig. 1). En los primeros estadios de la isquemia, aun cuando el proceso es reversible, se observan en sangre cantidades importantes de iones potasio, debido a un mal funcionamiento de la bomba sodio-potasio. En estadios posteriores hay salida de sustancias intermedias del metabolismo celular como lactato y, en estadios más avanzados, cuando el daño ya es irreversible y se han producido daños graves en la membrana celular, salen a la circulación macromoléculas, de mayor peso molecular, como son las enzimas. La salida de iones y metabolitos ocurre durante las primeras 6 h de la isquemia y, pasado este período, no van a encontrarse elevados en plasma. Además, su especificidad diagnóstica no es significativa para el IAM. Por el contrario, las enzimas, al tener una aparición más tardía y permanecer más tiempo elevadas, han sido tradicionalmente utilizadas como marcadores bioquímicos de elección para el diagnóstico del IAM.

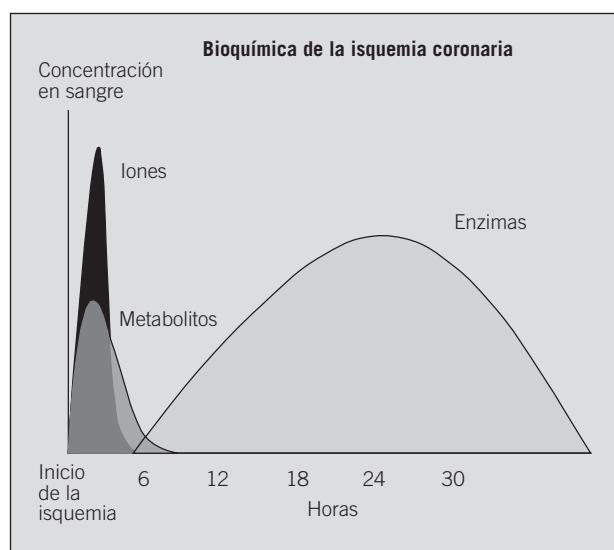


Fig. 1. Salida a la circulación sanguínea de constituyentes bioquímicos en relación con el proceso isquémico.

Palabras clave: Isquemia coronaria; Diagnóstico bioquímico; Mioglobina; Isoenzima MB de la creatincinasa C; Troponinas cardíacas.

Correspondencia: Dra. A. Galán.
Servicio de Bioquímica.
Hospital Universitario Germans Trias i Pujol.
Carretera del Canyet, s/n. 08916 Badalona. Barcelona.

Recibido el 10-7-2000; aceptado para su publicación el 7-9-2000

Med Clin (Barc) 2000; 115: 671-676

Diagnóstico enzimático del infarto agudo de miocardio

Las enzimas que se encuentran elevadas tras una necrosis del miocardio son las específicas de este órgano, es decir, la creatincinasa y su isoenzima MB (CKMB), la aspartato aminotransferasa (AST) y lactatodeshidrogenasa (LDH) y su isoenzima LDH1.

Los tiempos de aparición de estas enzimas en plasma, una vez que se ha producido la necrosis tisular, dependen del peso molecular de la enzima y de su localización intracelular (tabla 1). Así, la primera en aparecer es la creatincinasa (masa molar 80.000 daltons)⁶ y localización citoplasmática, seguida de la AST (94.000 daltons) y localización mitocondrial, siendo la LDH de aparición en sangre más tardía y la que más tiempo permanece elevada, ya que su tamaño es mayor (masa molar 140.000 daltons).

La creatincinasa es una enzima dimérica compuesta por dos subunidades polipeptídicas denominadas M (tipo muscular) y B (tipo cerebral), que poseen una masa molar de alrededor de 43.000 daltons⁷. De las distintas uniones entre los dos monómeros se forman tres isoenzimas: creatincinasa 1 o CKBB, constituida por dos monómeros B y predominante en el músculo liso; la creatincinasa 2 o CKMB, constituida por un monómero M y otro B, predominante en el miocardio, y la creatincinasa 3 o CKMM, constituida por dos monómeros M y predominante en el músculo esquelético.

La creatincinasa total presenta cifras elevadas en sangre, a partir de las 4 a 8 h del proceso isquémico⁸ pero, dada su abundante localización en el músculo esquelético y estriado, no es un marcador cardioespecífico. Por este motivo, para el diagnóstico de la isquemia coronaria se recurre a su isoenzima cardíaca, la isoenzima CKMB. La actividad enzimática de la CKMB ha sido y es el marcador de elección que la OMS utiliza para el diagnóstico del IAM. Tiene alta sensibilidad diagnóstica a partir de las 4 a 6 h del dolor y se mantiene elevada durante las primeras 48 h⁹. Aunque la CKMB está localizada básicamente en el miocardio, se han detectado cantidades muy pequeñas de la isoenzima en otros tejidos. Por tanto, pueden observarse elevaciones de la creatincinasa 2 sin IAM (tabla 2). Unas son de carácter fisiopatológico, como las debidas a otras alteraciones del miocardio diferentes del IAM o a destrucciones masivas del músculo esquelético¹⁰. Sin embargo, el mayor porcentaje de falsos positivos está ocasionado por la falta de especificidad de las metodologías utilizadas: valoración conjunta con la fracción BB, como puede suceder en las alteraciones de la musculatura lisa o por la presencia en el suero de variantes de creatincinasa de masa molar elevada, las llamadas macrocreatincinas. Todos los métodos que miden la actividad de la CKMB, a excepción de la electroforesis, se ven afectados por las otras isoenzimas y por las variantes de la creatincinasa, sobreestimando su resultado y ocasionando, por tanto, falta de especificidad del método, lo que puede provocar de un 3 a un 5% de falsos positivos en el diagnóstico del IAM.

Para minimizar los falsos diagnósticos positivos de la enfermedad mediante el uso de enzimas, en la práctica clínica se recurre a valorar conjuntamente, además de la creatincinasa y la isoenzima MB, la actividad de la AST/GOT y la isoenzima 1 de la LDH, siendo aconsejable efectuar determinaciones seriadas de las enzimas citadas, a distintos intervalos de tiempo, durante las primeras 48 h después del dolor precordial.

Nuevos marcadores bioquímicos de la isquemia coronaria

Desde 1986 han surgido marcadores más específicos y sensibles que la clásicas enzimas para valorar el IAM. La aparición de nuevos marcadores es debida, por una parte, a avances

TABLA 1

Actividades enzimáticas en el infarto agudo de miocardio

Enzima	Inicio de la elevación (horas)	Pico máximo de la actividad (horas)	Actividades enzimáticas múltiples del valor de referencia	Normalización de la actividad (días)
CKMB	3-12	10-18	> 10% actv. CK	1-2
Creatincinasa	3-18	24	7-10	2-3
AST/GOT	6-8	24-36	4-6	3-4
LDH	8-12	24-72	2-9	2-10
LDH ₁	10-14	48-72	> 40% actv. LDH	8-10

TABLA 2

Elevaciones séricas de CKMB sin infarto agudo de miocardio

A) Por razones fisiopatológicas
Miocardio
Cirugía cardíaca
Miocardiopatías
Electrocardioversión
Miocarditis
Angina inestable
Músculo esquelético
Polimiositis
Miopatías
Distrofias musculares
<i>Delirium tremens</i>
Intoxicación por alcohol
Ejercicio muy energético
Hipertermia maligna postanestesia
Síndrome de Reye
Rabdomiólisis
Traumatismos graves del músculo esquelético
Hipotiroidismo
Acromegalía
Enfermedades que produzcan hipopotasemia
B) Por razones tecnológicas
Valoración conjunta con la fracción BB
Necrosis intestinal
Cirugía intestinal
Encefalopatías
Necrosis cerebral
Presencia de isoenzimas anormales (macro creatincinas)

metodológicos (aparición de anticuerpos específicos frente a la isoenzima MB de la creatincinasa, troponinas T o I) y, por otra, a los avances terapéuticos de reperfusión miocárdica, que exigen que el marcador cardíaco sea más temprano, sensible y específico en la detección de la enfermedad.

Un marcador de isquemia coronaria debe cumplir las siguientes características: a) metodología rápida y sencilla para que pueda ser valorado sin dificultad las 24 h del día; b) elevada sensibilidad diagnóstica, especialmente en las primeras 24 h del proceso isquémico, y c) especificidad diagnóstica tan próxima al 100% como sea posible. Idealmente un marcador cardíaco debe detectar cantidades muy pequeñas (microinfartos) de zona infartada y valorar la eficacia de una reperfusión miocárdica. En un intento por cumplir estos objetivos se están utilizando, entre otros, los siguientes marcadores: mioglobina sérica, isoformas de la isoenzima 2 de la creatincinasa, concentración proteica de la isoenzima 2 de la creatincinasa (CKMB masa) y las troponinas I y T.

En la tabla 3 se resumen las características moleculares de los nuevos marcadores bioquímicos de isquemia coronaria, y la tabla 4 y la figura 2 ilustran su dinámica en plasma tras el proceso isquémico.

Mioglobina

La mioglobina es una proteína de 17.800 daltons que se encuentra en la musculatura cardíaca estriada y en la musculatura esquelética. Su concentración representa el 2% de

las proteínas totales del músculo. Su función consiste en transportar y almacenar oxígeno en la célula. Una pequeña parte está ligada al músculo y el resto se localiza en el citoplasma celular.

La mioglobina, debido a su pequeña masa molar y a su localización citoplasmática, es el marcador más temprano y sensible para el diagnóstico de la enfermedad, ya que a partir de las 2 h del proceso isquémico puede encontrarse elevada en plasma¹¹⁻¹³. Se elimina por el riñón y a las 24 h del proceso se ha aclarado del plasma. Sin embargo, dada su abundante localización en el músculo esquelético, presenta una especificidad diagnóstica para la isquemia coronaria deficiente. Su gran utilidad en el diagnóstico de la enfermedad es su elevado valor predictivo negativo; la probabilidad de un IAM es muy escasa si la mioglobina sérica ha permanecido normal en las 3 a 4 primeras horas del dolor precordial¹⁴⁻¹⁶. Un resultado positivo debe ser posteriormente confirmado con otro marcador más específico, como la CKMB o la troponina.

Concentración proteica de la isoenzima MB de la creatincinasa (CKMB masa)

La comercialización de anticuerpos específicos frente a la isoenzima MB de la creatincinasa ha llevado a disponer de métodos de inmunoanálisis específicos y sensibles para determinar esta isoenzima. Estos métodos miden la concentración proteica de la isoenzima MB y vulgarmente son conocidos como métodos de masa (CKMB masa). Los métodos de masa evitan los falsos positivos diagnósticos de IAM que, por razones metodológicas, ocasionan los métodos de actividad catalítica y mejoran notablemente su especificidad y sensibilidad¹⁷⁻²⁰.

Sin embargo, la falta de especificidad de la CKMB por razones fisiopatológicas no queda solventada con los métodos que miden su concentración proteica, ya que esta isoenzima no está exclusivamente localizada en el miocardio. Con todo ello, la CKMB, mediante métodos que valoran su concentración proteica, debe ser considerada un marcador altamente sensible de isquemia coronaria a partir de las 4 a 6 h del dolor precordial²¹. Como marcador relativamente tardío obliga a repetir la determinación, horas después, para confirmar el diagnóstico si el resultado basal es negativo. Las determinaciones seriadas de creatincinasa y CKMB después de 3 h, en pacientes en los que el electrocardiograma no es concluyente, tienen una sensibilidad diagnóstica del 90%²¹. La cuantificación de CKMB posee gran utilidad para valorar reinfartos, ya que a partir de 2 a 3 días del proceso isquémico la isoenzima se ha eliminado del plasma. Se han elaborado materiales de referencia para la isoenzima MB de la creatincinasa^{22,23} que ayudan a la estandarización de los métodos que miden la concentración proteica de la isoenzima (CKMB masa).

Isoformas de la CKMB

Se han descrito variantes de la isoenzima MB de la creatincinasa, de masa molar análoga a la isoenzima, denominadas isoformas²⁴. En plasma se han encontrado dos isoformas²⁵: la isoforma 2, que expresa la variante de localización tisular, y la isoforma 1, que representa la forma plasmática. Las isoformas son producidas por modificaciones postsintéticas de la isoenzima debido a la acción de una carboxipeptidasa plasmática que actúa sobre el monómero M de la creatincinasa 2 tisular.

A partir de los años noventa se han empezado a utilizar las isoformas de la CKMB para efectuar el diagnóstico temprano en fase aguda del IAM. La relación entre las formas tis-

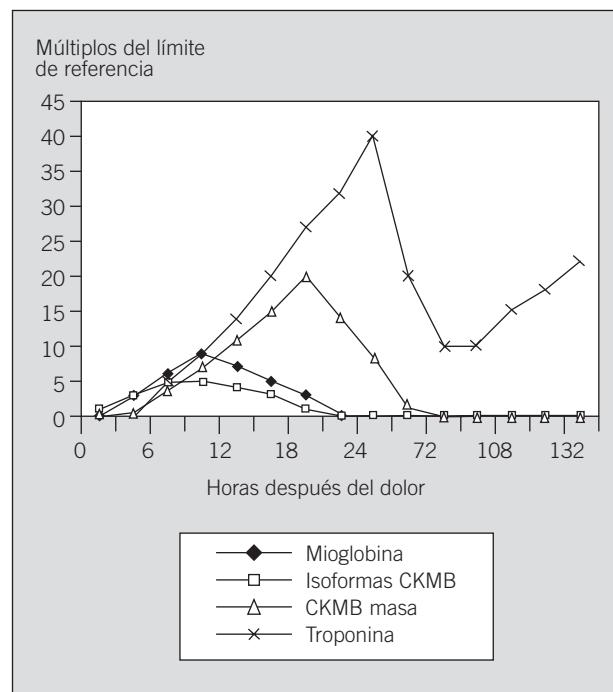


Fig. 2. Concentraciones plasmáticas de los marcadores cardíacos tras el proceso isquémico.

lar ($CKMB_2$) y plasmática ($CKMB_1$) de la CKMB (relación $CKMB_2/CKMB_1$ superior o igual a 3) es un marcador del IAM más temprano que la propia isoenzima 2, ya que puede diagnosticarse la enfermedad en las primeras 4 h del dolor precordial^{26,27}, aun cuando la CKMB no se haya detectado en sangre (fig. 3). Dada su precocidad, esta relación también es de utilidad para el diagnóstico de reperfusión miocárdica tras tratamiento fibrinolítico^{28,29}. Las isoformas de la CKMB son marcadores muy tempranos, con buena sensibilidad entre las 4 y las 6 h del dolor y con no tan alta especificidad^{27,28}. Para mejorar su valor diagnóstico deben acompañarse de otro marcador tardío de lesión miocárdica. Desde el punto de vista práctico, dado que la

TABLA 3

Características de los nuevos marcadores cardíacos

Marcador bioquímico	Masa molar (dalton)	Localización celular
Mioglobina	17.800	Citosol
CKMB	80.000	Citosol
Troponina I	23.500	3% citosol 97% complejo tropomiosina
Troponina T	33.000	6% citosol 94% complejo tropomiosina

TABLA 4

Dinámica de las concentraciones plasmáticas de los nuevos marcadores cardíacos tras el proceso isquémico

Marcador	Inicio de la elevación tras IAM (horas)	Pico de la elevación (horas)	Retorno a la normalidad
Isoformas CKMB	2-4	6-8	18-24 h
Mioglobina	2-3	6-9	18-24 h
CKMB	3-12	10-18	1-2 días
Troponina I	3-12	10-24	5-10 días
Troponina T	3-12	10-24	5-12 días

IAM: infarto agudo de miocardio.

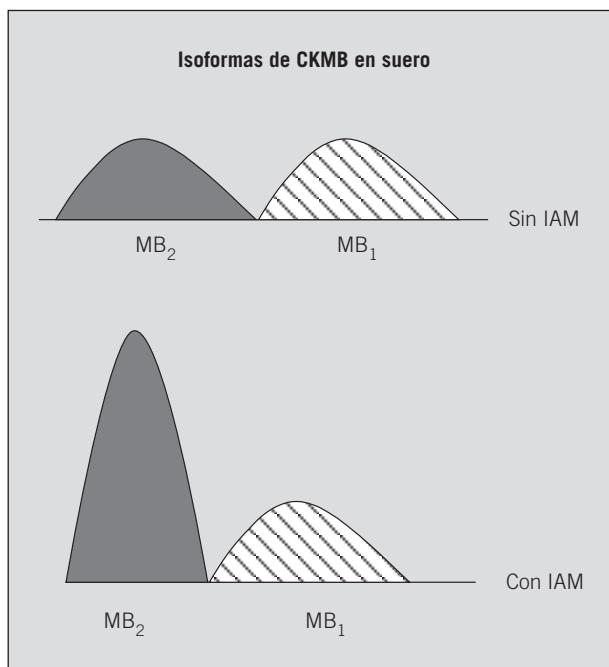


Fig. 3. MB_2 es la isoforma hística de la CKMB y MB_1 la isoforma plasmática de la isoenzima CKMB. La relación entre la forma hística y la plasmática en el suero en ausencia de lesión cardíaca es aproximadamente la unidad. En caso de IAM, el suero presenta tres veces más MB_2 que MB_1 durante las primeras horas del proceso isquémico.

metodología es análoga, como marcador tardío podrían utilizarse las isoenzimas de la LDH. El mayor inconveniente para su aplicación es que la metodología utilizada es complicada³⁰, pues se requieren técnicas de electroforesis, isoelectrofoque^{31,32} o cromatoenfoque³³. Con electroforesis de alto voltaje se logran muy buenas resoluciones en tan sólo 12 min³⁴, pero se requiere disponer del equipo, lo que incrementa el coste económico de la prueba.

Troponinas cardíacas

La troponina es una de las proteínas miofibrilares del músculo esquelético y su función consiste en regular la contracción muscular en relación con el ion calcio. El filamento grueso del músculo está formado por miosina, y el delgado, por actina, troponina y tropomiosina. Sólo la actina y la miosina son proteínas contráctiles; la troponina y la tropomiosina son reguladoras. La troponina está compuesta por tres péptidos llamados troponina T, troponina I y troponina C. La troponina T es reguladora de la tropomiosina; la troponina I (inhibitoria) inhibe la unión actina-miosina; la troponina C es el receptor del calcio, ya que al ligarse al calcio desaparece la inhibición de la troponina I sobre la tropomiosina, por lo que pueden formarse los puentes actina-miosina y activarse, por tanto, la contracción.

La teoría actualmente aceptada para el mecanismo de la contracción muscular implica la actividad ATP-asa (dos moléculas de ADP y fósforo inorgánico) presente en las cabezas de la miosina (fig. 4). En situación de reposo la miosina no contacta con la actina, ya que el sarcoplasma carece del calcio suficiente para que se produzca la contracción, y el calcio regula la actividad ATP-asa. Durante la contracción, al recibir la señal nerviosa se libera calcio al sarcoplasma; este calcio se une inmediatamente a los centros de unión del calcio a la troponina, induciendo un cambio conformacional que permite que las cabezas de actina y miosina se unan formando un ángulo de, aproximadamente, 90°. La liberación de la molécula de fósforo del complejo actinamiosina-ADP lleva a un cambio conformacional que hace deslizar la actina (golpe de fuerza) y adoptar un ángulo de 45° sobre la miosina. Este movimiento produce, al mismo tiempo, liberación de ADP. Por cada unión actina-miosina provocada, debido a la unión de dos moléculas de calcio a la troponina C, se precisan al menos dos moléculas de ATP, y para transportar dos moléculas de calcio desde el citosol al retículo se necesita una molécula de ATP.

Los diferentes tipos de músculo del organismo presentan características distintas de contracción; esto se debe a diferencias estructurales genéticamente determinadas en algunas de las proteínas miofibrilares. Se han descrito tres tipos

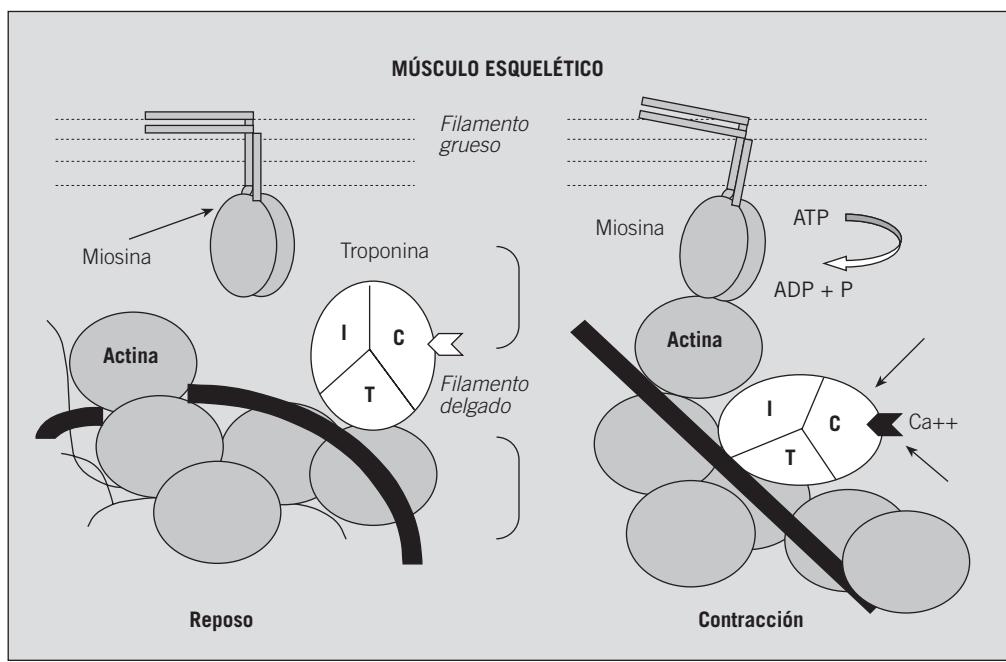


Fig. 4. Esquema del proceso de la contracción muscular e implicación de las proteínas miofibrilares y contráctiles del músculo esquelético.

de troponina I en humanos, una es específica del músculo cardíaco, y las otras son de musculatura esquelética lenta y rápida. Las formas existentes de troponina (I y T) en el músculo esquelético y cardíaco están codificadas por genes diferentes y poseen estructuras perfectamente diferenciadas, pues presentan distinta composición de aminoácidos. La troponina C, sin embargo, es idéntica en ambos tipos de músculo.

Se han patentado anticuerpos específicos frente a las troponinas T y las troponinas I cardíacas, de forma que puedan ser reconocidas por inmunoanálisis específicos³⁵. La valoración de troponina T o de troponina I permite el reconocimiento específico del daño miocárdico aun en presencia de daño muscular esquelético concomitante. Sin embargo, las moléculas de creatincinasa, creatincinasa MB y mioglobina se coexpresan en el músculo esquelético y en el miocardio. Por tanto, sólo las moléculas de troponina cumplen el criterio de cardioespecificidad. Esta cardioespecificidad garantiza que la detección de una molécula de troponina cardíaca en plasma sea indicativa de lesión miocárdica.

Las troponinas cardíacas tienen una pequeña fracción (6% para la T y 3% para la I)^{36,37} disuelta en el citoplasma de los cardiomiositos. Esto les confiere una precocidad en la detección de las lesiones celulares semejante a las otras proteínas citoplasmáticas, incluso mejor que la isoenzima MB de la creatincinasa, porque su masa molar es menor (33.000 g/mol para la T y 23.500 g/mol para la I). Sin embargo, la fracción mayoritaria, alrededor del 90%, está ligada estructuralmente al complejo tropomiosina y sólo aparece en plasma tras lesiones celulares irreversibles y, con posterioridad, a las 40 h de haberse producido éstas. Además, dado que su persistencia en el plasma es muy larga, puede también utilizarse como marcador tardío de la necrosis miocárdica. Por todo esto, la cardioespecificidad de las troponinas³⁸, junto con su amplia ventana diagnóstica (de 6-12 h a 5-10 días para la troponina I y de 6-12 h a 5-15 días para la troponina T), ha revolucionado en los últimos años el diagnóstico de la isquemia coronaria, ya que múltiples estudios demuestran la especificidad y sensibilidad de estos marcadores³⁹⁻⁴⁵.

Sin embargo, la falta de estandarización de los métodos, especialmente los que valoran la troponina I, determina que sea difícil comparar sus resultados y decantarse por un método en concreto. De hecho, varias Sociedades científicas⁴⁶ están trabajando en la elaboración de materiales de referencia primarios y secundarios de marcadores cardíacos, especialmente troponinas. Con ello se logrará el intercambio de resultados, unificar límites de decisión diagnóstica y, por tanto, facilitar la utilización clínica de estos marcadores.

Conclusiones

Los dos conceptos básicos de esta revisión son: *a) la distribución tisular de un marcador determina su cardioespecificidad, y *b) la localización celular y la masa molar del marcador definen el período de tiempo, a partir de la hora en que se ha producido el dolor precordial, en el que encontraremos elevado el marcador en sangre. Barajar estos conceptos es la clave para elegir el o los marcadores que conducirán al diagnóstico de la enfermedad.**

Posiblemente, desde un punto de vista genérico, no existe un marcador bioquímico ideal para el diagnóstico de la isquemia aguda coronaria. Para el diagnóstico de dicho proceso es conveniente utilizar dos marcadores bioquímicos cardíacos: un marcador temprano, que aparezca en sangre durante las primeras 6 h del dolor precordial, y un marcador definitivo valorable en la sangre a partir de las 6 h del dolor y que sea capaz de detectar la lesión miocárdica con

sensibilidad y especificidad elevadas y durante el mayor tiempo posible.

Como marcador temprano pueden usarse la mioglobina y las isoformas de la isoenzima MB de la creatincinasa; aunque la mioglobina sea un marcador más inespecífico que las isoformas, esta prueba se emplea menos dada su difícil puesta en práctica. Como marcador definitivo habría que incluir la concentración proteica de la isoenzima MB de la creatincinasa (CKMB masa) y las troponinas (I o T). Cualquiera de estos marcadores logra el diagnóstico de confirmación a partir de las 6 h del dolor. Las troponinas son más cardioespecíficas y presentan una ventana diagnóstica superior a la CKMB masa. Sin embargo, la falta de estandarización de los métodos para valorar la troponina, especialmente la I, supone que este marcador todavía no ha reemplazado de forma definitiva a la CKMB masa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. *Circulation* 1979; 59: 607-609.
- Panteghini M. IFCC Committee on standardization of markers of cardiac damage: premises and project presentation. IFCC. Scientific Division. Committee on standardization of markers of cardiac damage. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 887-893.
- Wu AHB, Apple FS, Gibler WB, Jesse RL, Warshaw MM, Valdés R. National academy of clinical biochemistry standards of laboratory practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem* 1999; 45: 1104-1121.
- Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Dati F, Mair J, Wu AH. Use of biochemical markers in acute coronary syndromes. IFCC. Scientific Division. Committee on standardization of markers of cardiac damage. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 687-693.
- Hearse DJ. Cellular damage during myocardial ischaemia: metabolic changes leading to enzyme leakage. En: Hearse DJ, De Leiris J, editores. *Enzymes in cardiology. Diagnosis and research*. Chichester: Wiley, 1979; 4-14.
- Dawson DM, Fine IH. Creatine kinase in human tissues. *Arch Neurol* 1967; 16: 175-178.
- Burger A, Richterich R, Aebi N. Die heterogenität der kreatin-kinase. *Biochem Z* 1964; 339: 305-307.
- Ryan W, Karliner JS, Gilpin EA. The creatine kinase curve area and peak creatine kinase after myocardial infarction: usefulness and limitations. *Am Heart J* 1981; 101: 162-168.
- Bernstein LH, Sachs E, Jonas A. Timed sequential measurements of creatine kinase MB in diagnosis of myocardial infarction. *Clin Chem* 1984; 30: 1588-1589.
- Galán A. Creatina quinasa. En: Isoenzimas y formas múltiples de las enzimas en bioquímica clínica. F. Canalás, 1996; 5: 33-42.
- Mair J. Progress in myocardial damage detection: new biochemical markers for clinicians. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1997; 34: 1-66.
- Montague C, Kircher T. Myoglobin in the early evaluation of acute chest pain. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 472-476.
- Woo J, Lacbawan FL, Sunheimer R. Is myoglobin useful in the diagnosis of acute myocardial infarction in the emergency department setting? *Am J Clin Path* 1995; 103: 725-729.
- Brogan GX, Friedman S, McCuskey C. Evaluation of a new rapid quantitative immunoassay for serum myoglobin versus CK-MB for ruling out myocardial infarction in the emergency department. *Ann Emerg Med* 1994; 24: 665-671.
- Tucker JF, Collins RA, Anderson AJ. Value of serial myoglobin levels in the early diagnosis of patients admitted for acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 1994; 24: 704-708.
- Panteghini M. Standardization activities of markers of cardiac damage: the need of a comprehensive approach. *Eur Heart J* 1998; 19 (Supl N): 8-11.
- Bhanya V, Henderson AR. Biochemical markers of myocardial damage. *Clin Biochem* 1985; 28: 1-29.
- Henderson AR, Krishnan S, Webb S, Cheung CM, Nazir DJ, Richardson H. Proficiency testing of creatine kinase and creatine kinase-2: the experience of the Ontario Laboratory Proficiency Testing Program. *Clin Chem* 1998; 44: 124-133.
- Galán A, Balsells R, Ferragut FJ, Gella FJ, Gubern G, Padrós A et al. Recomendaciones para la determinación de isoenzimas de la creatina quinasa en suero sanguíneo humano. Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular. Comité Científico. Comisión de Enzimas. *Quím Clin* 1996; 15: 53-56.
- Douze H, Galán A, Corominas A. Assay of CK-MB mass: analytical and clinical study. *Quím Clin* 1990; 9: 293.

21. Gibler WB, Lewis LM, Erb RE. Early detection of acute myocardial infarction in patients presenting with chest pain and non-diagnostic electrocardiograms: serial CK-MB sampling in the emergency department. *Ann Emerg Med* 1990; 19: 1359-1366.
22. Galán A, Canalias F, Padrós A, Sierra C. Elaboración de un material estable para la isoenzima MB de la creatina quinasa humana. *Rev Diag Biol* 1996; 159-163.
23. Gella FJ, Frey E, Ceriotti F, Galán A, Hadjivassiliou AG, Horder M et al. Production and certification of an enzyme reference material for creatine kinase isoenzyme 2 (CRM 608). *Clin Chim Acta* 1998; 276: 35-52.
24. Stein W, Bohner J, Eggstein M, Lang H. Creatine kinase variants. Report on the workshop conference of the German Society for Clinical Chemistry. Tübingen 1982 September 19-21. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 859-876.
25. Wevers RA, Delsing M, Klein Gebbing JAG, Soons JBJ. Post-synthetic changes in the creatine kinase isoenzymes. *Clin Chim Acta* 1978; 86: 323-326.
26. Puleo PR, Guadagno P, Perryman MB. Sensitive, rapid assay of subforms of creatine kinase. *Clin Chem* 1989; 35: 1452-1455.
27. Wu AHB, Wang XM, Gornet TG, Ordóñez-Llanos J. Creatine kinase isoforms in patients with skeletal muscle injury: ramifications for early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1992; 38: 2396-2400.
28. Christenson RH, Ohman EM, Clemmensen P, Grande P, Toffaletti J, Silverman LM et al. Characteristics of creatine and MB isoforms in serum after reperfusion in acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1989; 35: 2179-2185.
29. Puleo PR, Perryman B. Non invasive detection of reperfusion in acute myocardial infarction based on plasma activity of creatine kinase MB subforms. *J Am Coll Cardiol* 1991; 17: 1047-1052.
30. Wu AHB. Creatine kinase isoforms in ischemic heart disease. *Clin Chem* 1989; 35: 7-13.
31. Grace AM, Strauss AW, Sobel BE. Sensitive quantification of isoforms of canine MM creatine kinase with an immunoblot procedure suitable for large number of samples. *Anal Biochem* 1985; 26: 457-462.
32. Panteghini M. Serum isoforms of creatine kinase isoenzymes. *Clin Biochem* 1988; 21: 211-218.
33. Nohara R, Sobel BE, Abendschein DR. Quantitative analysis of isoforms of MM creatine kinase in plasma by chromatofocusing with on-line monitoring of enzyme activity. *Clin Chem* 1988; 34: 235-239.
34. Escobar R, Gornet TG, Wu AHB. Evaluation of an automated electrophoresis analyzer for cardiac isoenzymes: The Helena Rep. *Clin Chem* 1988; 33: 1284-1288.
35. Bucher EA, Maisonneuve PC, Konieczny SF, Emerson CP. Expression of troponin complex genes: transcriptional coactivation during myoblast differentiation and independent control in heart and skeletal muscles. *Mol Cell Biol* 1988; 41: 34-42.
36. Katus HA, Remppis A, Scheffold T, Diederich KW, Kuebler W. Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1991; 1360-1367.
37. Adams JE, Schechtman KB, Landt Y, Ladenson JH, Jaffe AS. Comparable detection of acute myocardial infarction by creatine kinase MB isoenzyme and cardiac troponin I. *Clin Chem* 1994; 40: 1291-1295.
38. Wu AHB. Use of cardiac markers as assessed by outcome analysis. *Clin Biochem* 1997; 30: 339-350.
39. Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W. The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. *N Engl J Med* 1992; 327: 146-150.
40. Hamm CW, Goldman BU, Heeschen C. Emergency room triage of patients with acute chest pain by means of rapid testing for cardiac troponin I or troponin T. *N Engl J Med* 1997; 337: 1648-1653.
41. Ohman EM, Armstrong PW, Christenson RH, Granger CB, Katus HA, Hamm AW et al. Cardiac troponin levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. *N Engl J Med* 1996; 335: 1342-1349.
42. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996; 335: 1333-1341.
43. Henderson AR. An overview and ranking of biochemical markers of cardiac disease. Strengths and limitations. *Clin Lab Med* 1997; 17: 625-654.
44. Hamm CW. Cardiac-specific troponins in acute coronary syndromes. En: Braunwald E, editor. *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine* (5.^a ed.). Filadelfia: Saunders, 1997; 1-10.
45. Jesse RL, Kontos MC. Evaluation of chest pain in the emergency department. *Curr Probl Cardiol* 1997; 4: 149-236.
46. Dati F, Panteghini M, Apple FS, Christenson RH, Mair J, Wu AH. Proposals from the IFCC Committee on standardization of markers of cardiac damage: (C-SMCD): strategies and concepts on standardization of cardiac marker assays. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59 (Supl 230): 113-123.